

Verwendung metallorganischer Verbindungen als Inhibitoren für Serinproteasen

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)

dem Fachbereich Chemie
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Matthias Bischof

aus Fulda

Marburg/Lahn 2013

Die vorliegende Dissertation entstand in der Zeit von Januar 2010 bis Februar 2013 am Fachbereich Chemie der Philipps-Universität Marburg in der Arbeitsgruppe und unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. Eric Meggers.

Vom Fachbereich Chemie der Philipps-Universität Marburg (Hochschulkennziffer 1180)
als Dissertation am 18.02.2013 angenommen.

Erstgutachter: Herr Prof. Dr. Eric Meggers

Zweitgutachter: Herr Prof. Dr. Jörg Sundermeyer

Tag der mündlichen Prüfung: 08.05.2013

Für Nadine

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Eric Meggers danke ich für die Betreuung sowohl meiner Diplomarbeit, als auch meiner Dissertation und für die exzellenten Arbeitsbedingungen sowie die interessante Themenstellung.

Herrn Prof. Dr. Jörg Sundermeyer danke ich sehr herzlich für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Den Mitarbeitern der analytischen Abteilungen des Fachbereichs danke ich für die stets schnelle und zuverlässige Durchführung zahlreicher Messungen.

Bei den Mitgliedern des Arbeitskreises bedanke ich mich für die große Hilfsbereitschaft und eine angenehme Arbeitsatmosphäre. Besonders erwähnen möchte ich hierbei Katja Kräling und Ina Pinnschmidt für ihre organisatorischen Hilfeleistungen, sowie Sebastian Blanck, Stefan Mollin, Florian Ritterbusch und Tom Breiding für eine Vielzahl von interessanten Unternehmungen.

Den Korrekturlesern Tom Breiding, Sebastian Blanck, Peter Göbel, Jens Henker, Stefan Mollin, Florian Ritterbusch und Nadine Wohlkopf bin ich zu besonderem Dank verpflichtet.

Meinen Vertiefungs- und Bachelorstudenten Lara Golde, Jasmin Heinzer, Nathalie Nett und Tobias Seitz danke ich für den Beitrag, den sie zu der Arbeit geleistet haben.

Meiner Verlobten Nadine Wohlkopf danke ich für die Unterstützung während der Dissertation und dafür, dass Sie immer zu mir gehalten hat.

Mein größter Dank geht an meine Eltern, die immer moralisch und finanziell hinter mir gestanden haben und meine Ausbildung so erst ermöglichten.

Inhalt

1. Stand der Forschung.....	1
1.1 Metalle in der Medizin	1
1.1.1 Metalle in der Diagnostik	1
1.1.2 Biologisch wirksame Metallkomplexe	4
1.2 Chromophor-unterstützte Photodeaktivierung	9
1.3 Serinproteasen	15
1.3.1 Ausgewählte Serinproteasen und rationales Inhibitor- design	17
1.3.2 Inhibitoren in klinischen Tests	21
1.3.3 Organometallische Serinprotease-Inhibitoren.....	23
2. Aufgabenstellung.....	25
3. Eigene Arbeiten	27
3.1 Bipyridinamidine als Serinprotease-Inhibitoren	27
3.1.1 Ligandendesign und -synthese	28
3.1.2 Synthese der Metallkomplexe.....	30
3.1.3 Untersuchung der biologischen Aktivität	36
3.2 Entwicklung eines Serinprotease-Inhibitors auf Basis des Dipyrido[3,2-a:2',3'-c]phenazin Grundgerüsts.....	41
3.2.1. Ligandendesign und Synthese	41
3.2.2 Darstellung von Metallkomplexen	42
3.2.3 Untersuchung der biologischen Aktivität	43
3.3 Methylthioetherbenzamidine als Serinprotease-Inhibitoren	45
3.3.1 Ligandendesign.....	45
3.3.1 Synthese der Liganden	46
3.3.3 Synthese pseudooktaedrischer Halbsandwichkomplexe	48
3.3.4 Untersuchung der biologischen Aktivität	51
3.4 Indazole als Serinprotease-Inhibitoren	55
3.4.1 Ligandendesign.....	55
3.4.2 Synthese des Liganden	56

3.4.3 Synthese der Metallkomplexe.....	60
3.4.4 Untersuchung der biologischen Aktivität.....	64
3.5 Triazolkomplexe als Thrombininhibitoren.....	67
3.5.1 Ligandendesign.....	67
3.5.2 Synthese der Liganden	71
3.5.3 Synthese der Metallkomplexe.....	75
3.5.4 Untersuchung der biologischen Aktivität.....	84
3.5.5 Optimierung des Inhibitors	94
3.6 Chromophor-unterstützte Photodeaktivierung	99
3.6.1 Untersuchung der Enzymaktivität nach verschiedenen Belichtungszeiten	99
3.6.2 Photostabilität	105
3.6.3 Nachweis der oxidativen Schädigung.....	106
3.6.4 Untersuchung anderer Enzymklassen	107
3.6.5. Verwendung von Ammoniumperoxodisulfat als Kooxidationsmittel	107
3.6.6 Modifikationen des Cali-Inhibitors	109
4. Zusammenfassung und Ausblick	113
4.1 Serinprotease-Inhibitoren	113
4.2 Chromophor-unterstützte Photodeaktivierung	117
5. Experimenteller Teil	121
5.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften und Techniken	121
5.2. Synthesen	125
6. Literatur	189
Anhang - Tabellen.....	197

Abstract

Organometallische Verbindungen als Enzym-Inhibitoren

Organometallische Verbindungen sind in der Lage durch Ausweitung der Koordinationszahl im Vergleich zu rein organischen Verbindungen globuläre dreidimensionale Strukturen auszubilden. MEGGERS *et al.* nutzten diese Fähigkeit der Metallkomplexe, um das aktive Zentrum von Enzymen aus der Kinasefamilie optimal auszufüllen.

In dieser Arbeit wurde das Design organometallischer Serinprotease-Inhibitoren entwickelt und untersucht. Das Metallzentrum hatte zum einen strukturgebende Aufgaben, zum anderen wurde auch die spezielle Reaktivität von Polypyridyl-Rutheniumkomplexen hinsichtlich ihrer Photochemie ausgenutzt.

Verschiedene basische und nicht-basische Liganden wurden synthetisiert und in pseudo-oktaedrische sowie oktaedrische Metallkomplexe überführt. Aus verschiedenen basischen Komplexen wurde ein enantiomerenreiner Phenylpyridin-Iridiumkomplex mit einem IC_{50} für Trypsin von 1.01 $\mu\text{mol/L}$ als potentester Inhibitor identifiziert. Unter Verwendung nicht-basischer Inhibitoren wurde mit einem Halbsandwichkomplex ein Inhibitor erhalten, der Thrombin mit einem IC_{50} von 40 $\mu\text{mol/L}$ in der gleichen Größendordnung wie die basischen Amidinhibitoren hemmt.

Der potenteste Inhibitor wurde unter Berücksichtigung der besonderen Reaktivität von Polypyridyl-Rutheniumkomplexen erhalten. Diese produzieren unter Belichtung Singulett Sauerstoff, der in der Lage ist bestimmte Aminosäuren unter physiologischen Bedingungen selektiv zu schädigen. Auf diese Weise konnte nach 120 min Belichtung ein Inhibitor mit einem IC_{50} -Wert von 101 nmol/L erhalten werden.

Organometallic compounds enzyme inhibitors

Organometallic compounds are capable of shaping spatial globular structures by extension of the coordination number compared to organic substances. MEGGERS *et al.* used this capability to successfully fill in the chemical space in active sites of protein kinases.

In this dissertation organometallic serine protease inhibitors were designed and examined. The metal center on one hand had structural properties to adjust the ligand sphere, but on the other hand photochemical features were used to develop CALI inhibitors (chromophore assisted light inactivation).

Several basic and non-basic ligands were synthesized and transferred into metal complexes of octahedral and pseudo octahedral geometry. Out of a series of different designs of basic inhibitors an enantiomerically pure octahedral coordinated iridium phenylpyridine complex was found with an IC_{50} of 1.01 $\mu\text{mol/L}$ for Trypsin. However, by using non-basic and less affine ligands out of a library a pseudo octahedral coordinated ruthenium cyclopentadienyl complex was identified as a Thrombin inhibitor with an IC_{50} of 40 $\mu\text{mol/L}$, showing no affinity for Trypsin in the studied concentration range. By using the CALI-technique where a chromophore attached to the inhibitor produces singlet oxygen the most potent inhibitors for trypsin were obtained. Several irradiation times were examined and after irradiation for 120 min an IC_{50} of 101 nmol/L was determined for a bipyridine complex.

Kapitel 1

Stand der Forschung

1.1 Metalle in der Medizin

Neben klassischen organischen Wirkstoffen und Arzneimitteln sind auch anorganische Verbindungen in klinische Tests und bis zur Marktreife vorgedrungen. Von großer Bedeutung sind dabei häufig die einzigartigen spektroskopischen Eigenschaften oder die unterschiedliche Reaktivität im Vergleich zu den organischen Pendants, welche die Anwendung von Metallverbindungen unumgänglich erscheinen lässt.

1.1.1 Metalle in der Diagnostik

Breite Anwendung finden Organometallverbindungen in der Diagnostik. Dabei wird im Allgemeinen zwischen Radiodiagnostik und Kontrastmittel für Magnetresonanztomographie unterschieden.^[1] In der Radiodiagnostik werden vorwiegend ^{99m}Tc -Verbindungen eingesetzt, da diese schwache γ -Emitter sind und die Zellen nicht schädigen. Die Halbwertszeit dieser Verbindungen liegt bei sechs Stunden, so klingt die radioaktive Strahlung schnell ab und erreicht die Dosis einer gewöhnlichen Röntgenaufnahme.^[1] Abbildung 1 zeigt zwei verschiedene ^{99m}Tc -Verbindungen, die in der Radiodiagnostik verwendet werden.^[2]

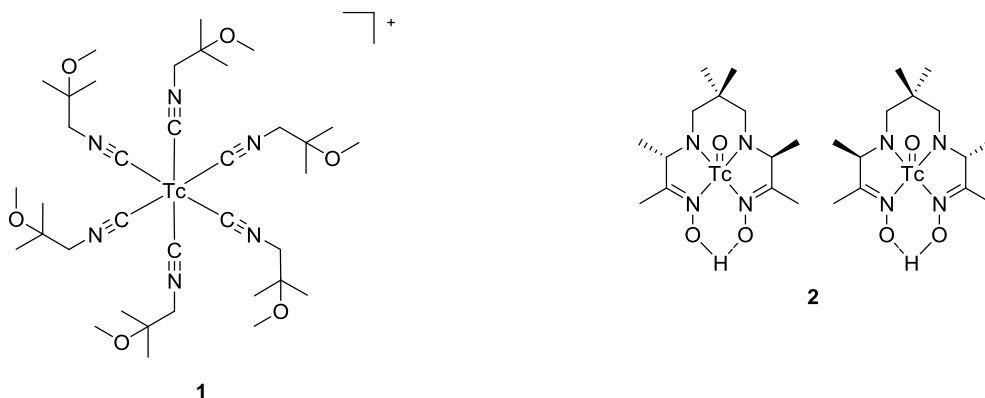


Abbildung 1: Schwach radioaktive Technetium-Verbindungen für die Radiodiagnostik. Verbindung **1** wird zum Einfärben des Herzmuskels, Verbindung **2** wird als Kontrastmittel für Gehirngewebe verwendet.^[1]

Verbindung **1** (Cardiolit) kann in das Herzmuskelgewebe eindringen und so gesundes Gewebe einfärben.^[1,3] Des Weiteren kann Cardiolit auch für die Detektion von Brustkrebs und Schilddrüsenkrebs verwendet werden.^[1] Als Kontrastmittel für Gehirngewebe wird Verbindung **2** (Ceretec) verwendet, die in der Lage ist, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Zusätzlich kann Ceretec zur Erkennung von Schlaganfall, Demenz und Alzheimer eingesetzt werden.^[4-6] Aufgrund des Erfolges der Technetium-Radiodiagnostika, wurden Verbindungen für die spezifische Erkennung entwickelt. Die Technetiumverbindungen wurden über einen Linker mit einem Peptid,^[7] Protein,^[1] Steroid,^[1] oder Zucker^[9] verknüpft. Die in Abbildung 2 dargestellte Verbindung [TcO]Depreotid **3** verwendet das Peptid Somatostatin, welches das Zellwachstum reguliert und an Somatostatin-Rezeptoren bindet. Diese Rezeptoren sind an Zelloberflächen zu finden, wobei Krebszellen eine höhere Anzahl der Rezeptoren besitzen als gesunde Zellen. Somit ist [TcO]Depreotid eine nützliche Verbindung für das Aufspüren von Krebs im Frühstadium.^[7]

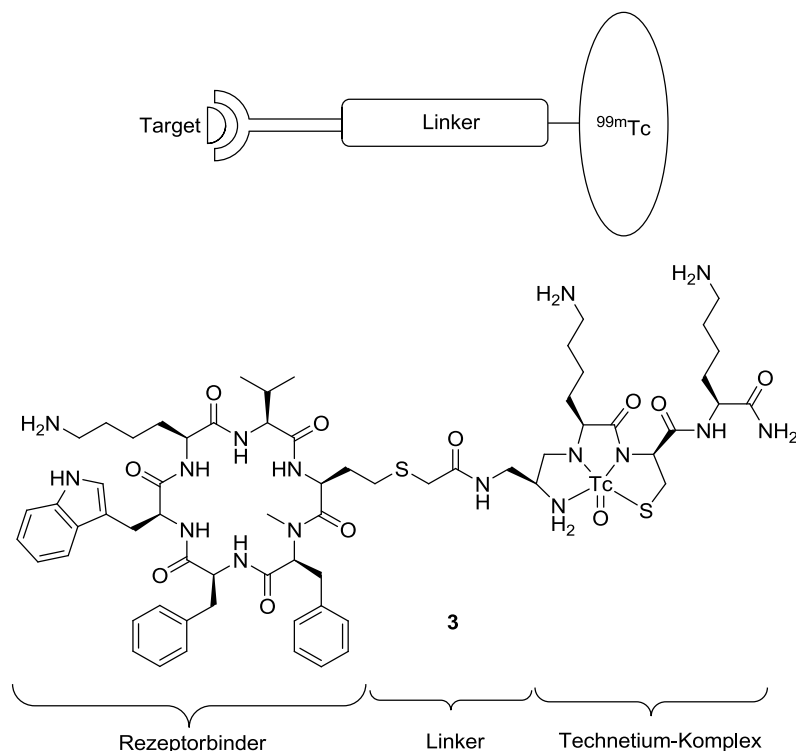


Abbildung 2: Vorgehen bei der Entwicklung selektiver Radiodiagnostika. Oben: Der allgemeine Aufbau funktionalisierter Tc-Komplexe. Unten: Verbindung **3** zum Aufspüren von Krebs im Frühstadium.^[7]

Nachdem herausgefunden wurde, dass die NMR-Technik auch für die Untersuchung von Wassermolekülen in krankem und gesundem Gewebe verwendet werden kann, fand diese Technik breiten Einzug in der medizinischen Anwendung. Durch Zugabe paramagnetischer Metallkomplexe kann der Kontrast wesentlich verbessert werden, wobei hauptsächlich Mangan-, Gadolinium- und Eisenkomplexe verwendet werden (Abbildung 3).^[10-14]

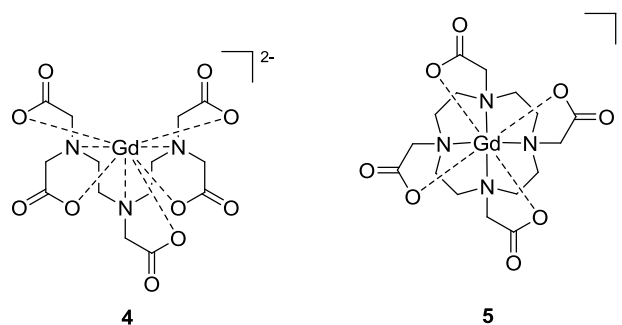


Abbildung 3: Gd-basierte Kontrastmittel in der Magnetresonanztomographie.

Bei den Verbindungen **4** (Magnevist) und **5** (Dotarem) wird Gd^{3+} als Zentralion verwendet, das mit einem Gesamtspin von $S = 7/2$ hoch paramagnetisch ist. Dotarem besitzt einen achtzähligen Liganden und so bleibt eine Koordinationsstelle für die Koordination eines Wassermoleküls frei. Bei diesen Verbindungen ist allerdings wichtig, dass die Liganden nicht vollständig durch Wasser ausgetauscht werden, da der $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ -Komplex hoch toxisch ist.^[1] Magnevist ist normalerweise nicht in der Lage die Blut-Hirnschranke zu überwinden. Ist diese Schranke jedoch durch einen Tumor geschädigt, so ist eine Penetration des Tumorgewebes möglich und der Tumor kann eingefärbt werden.^[1]

Des Weiteren wurden lumineszierende organometallische Sensoren oder Sonden entwickelt, die je nach Design an bestimmte Biomoleküle binden und beispielsweise über FLIM (Fluorescence lifetime imaging microscopy) detektiert werden.^[15] In Abbildung 4 sind einige Vertreter dieser Substanzklasse dargestellt.

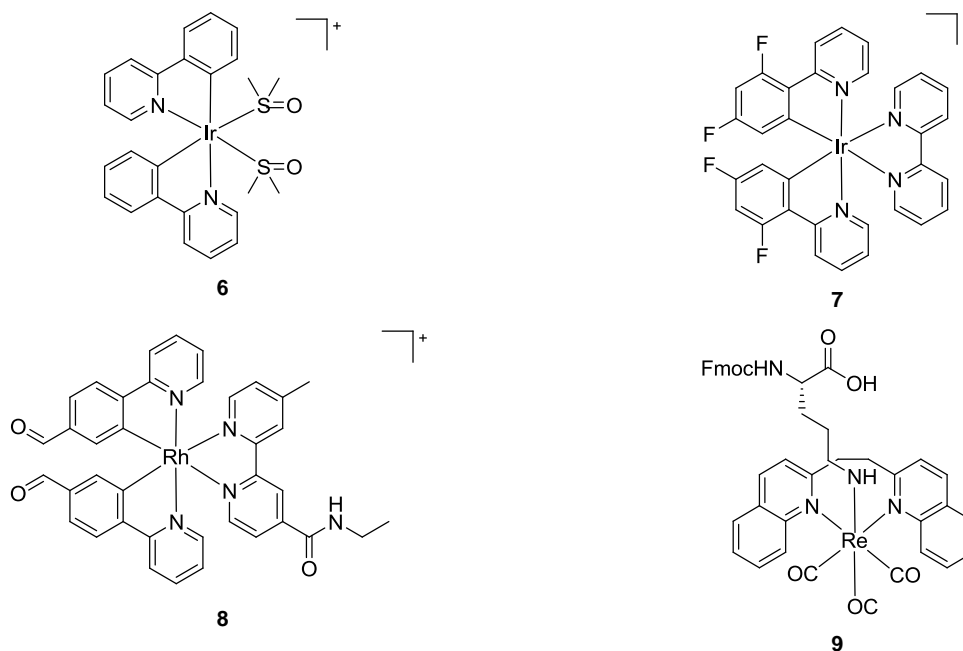
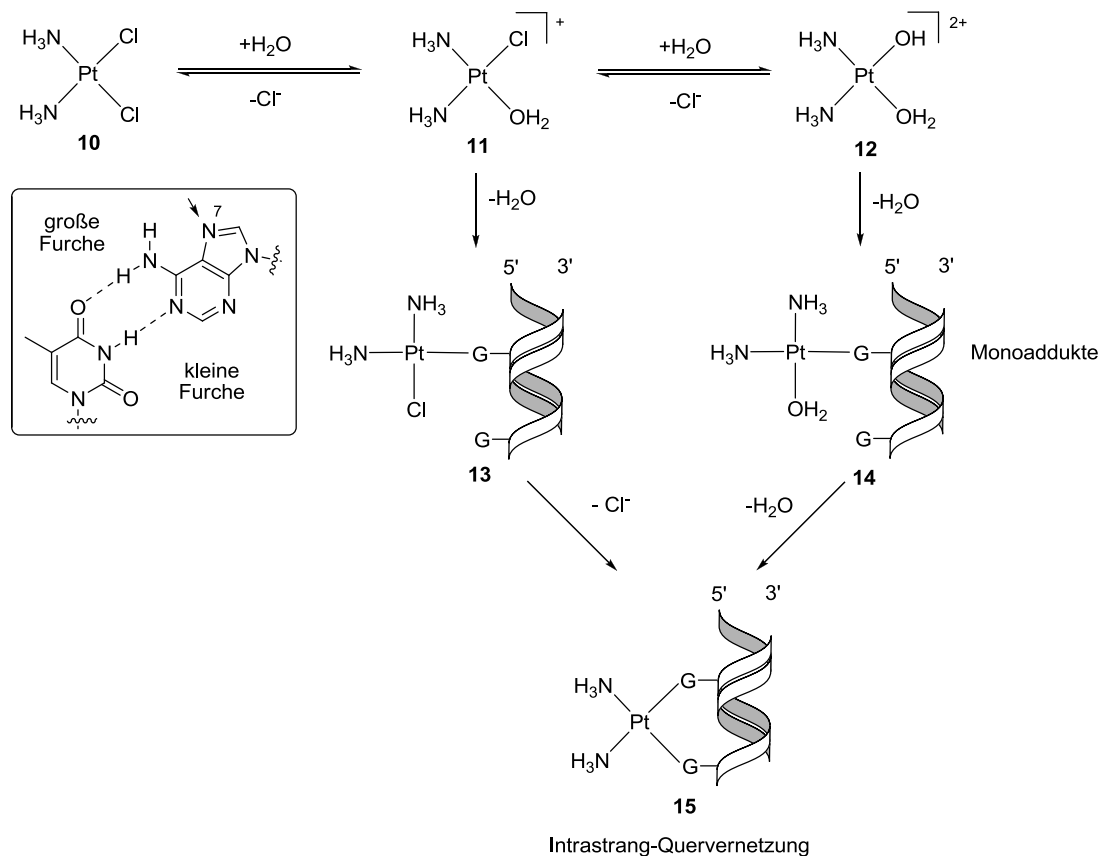


Abbildung 4: Organometallische Sensoren mit Iridium, Rhodium und Rhenium als Zentral-Ion. Verbindung **6** koordiniert unter Ligandenaustausch an Histidin und wird so in eine lumineszierend Form überführt. Verbindungen **7** und **8** reichern sich in HeLa-Zellen an. Rheniumkomplex **9** kann durch Festphasensynthese in Proteine eingebaut werden und als hoch effektiver Marker verwendet werden.

Verbindung **6** kann in der dargestellten Form nicht detektiert werden. Die semilabilen DMSO-Liganden werden aber leicht durch Histidine von Proteinen ausgetauscht, wodurch ein lumineszierender Komplex generiert wird.^[16] Iridiumkomplex **7** und Rhodiumkomplex **8** sind in der Lage sich bevorzugt in Cytoplasma von HeLa-Zellen zu akkumulieren.^[17] Rheniumkomplex **9** konnte in ein Peptid über Festphasensynthese eingebaut werden und Konzentrationen von 1 nmol/L ließen sich in menschlichen Leukozyten nachweisen.^[18]

1.1.2 Biologisch wirksame Metallkomplexe

Das erste Metall-basierte Medikament in klinischer Zulassung war *cis*-Platin **10** und wurde für die Behandlung verschiedene Krebsarten, vor allem Hodenkrebs eingesetzt.^[19] Im Körper findet eine Liganden-Austauschreaktion der beiden Chlorido-Liganden zu den Aqua-Komplexen **11** bzw. **12** statt. Die Aqua-Komplexe können anschließend unter Wasserabspaltung an N7 einer Guanineinheit der DNA (**13** und **14**) binden und nach Dissoziation des zweiten Liganden Intrastrang-Quervernetzungen mit einer benachbarten Guanineinheit des gleichen Strangs ausbilden (**15**, Schema 1).



Schema 1: Wirkmechanismus von *cis*-Platin: Nach Ligandenaustausch kann der Aqua-Komplex an eine Guanineinheit des DNA-Doppelstrangs koordinieren. Durch weiteren Ligandenaustausch bindet der Komplex an eine benachbarte Guanineinheit und bildet eine Intrastrang-Quervernetzung aus. Dabei wird die DNA-Geometrie verzerrt und durch Reparationsproteine der Zelltod eingeleitet.^[17]

Nach Koordination an die zweite Guanin-Base führt die quadratisch-planare Geometrie am Platin-Ion zu einer Verdrillung der Stränge. Die Wasserstoffbrückenbindungen der Watson-Crick-Paare bleiben intakt, wobei die Paare gegeneinander verdreht werden. Diese Anomalien in der DNA-Struktur werden von Proteinen erkannt und die Apoptose wird eingeleitet.^[20] Aufgrund der hohen Toxizität von *cis*-Platin haben sich die Analoga Carboplatin **16** und Oxaliplatin **17** etabliert (Abbildung 5).^[19,20] Sartraplatin **18** fiel in Phase III der klinischen Studien durch, zeigte aber den vielversprechenden Ansatz der Aktivierung durch den körpereigenen Stoff Glutation, der Sartraplatin zu einem Pt(II)-Komplex reduziert.^[21]

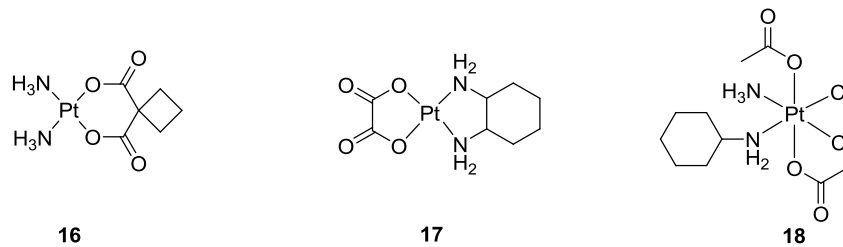
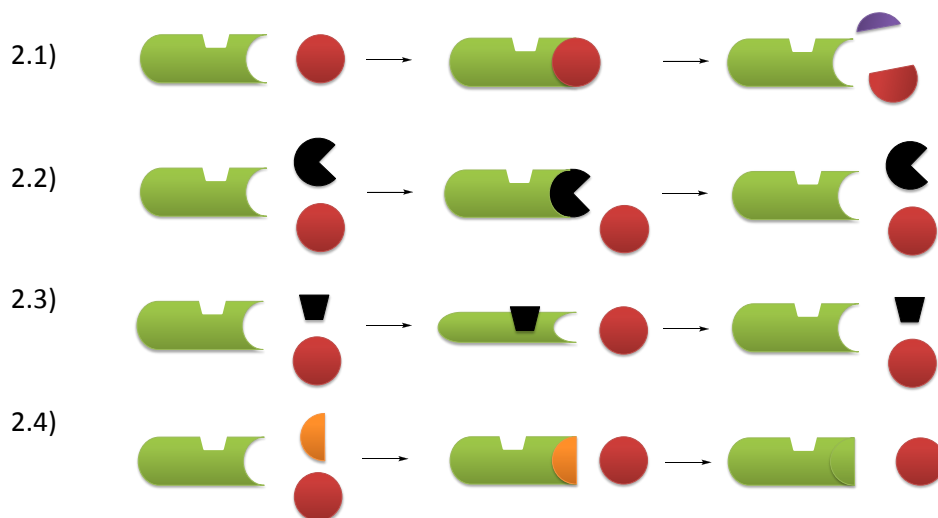


Abbildung 5: Weniger zytotoxische *cis*-Platin Analoga: Carboplatin **16**, Oxaliplatin **17** und Sartraplatin **18**.

DWYER erforschte bereits in den 50er Jahren die Verwendung homoleptischer Rutheniumkomplexe als Enzyminhibitoren. Inhibitoren binden an Enzyme und blockieren so das aktive Zentrum. Dadurch kann das natürliche Substrat nicht umgesetzt werden. Grundsätzlich wird bei den klassischen Inhibitoren zwischen kompetitiven und allosterischen sowie reversiblen und nicht-reversiblen Inhibitoren unterschieden.^[8] In Schema 2.1 ist die Enzymreaktion dargestellt: Das Substrat (rot) bindet an das Enzym (grün) und wird gespalten (rot und violett).



Schema 2: Schematische Darstellung der verschiedenen Inhibitorklassen: 2.1) Substrat (rot) wird von Enzym (grün) gespalten. 2.2) Ein kompetitiver Inhibitor (schwarz) konkurriert mit dem Substrat um die Bindeposition, das Enzym wird blockiert. 2.3) Ein allosterischer Inhibitor (schwarz) bindet nicht am aktiven Zentrum, sondern an einer weiteren Bindungsstelle an der Enzymoberfläche und verändert so die dreidimensionale Struktur des Enzyms, so dass das Substrat (rot) nicht mehr binden kann. 2.4) Ein irreversibler Inhibitor bindet kovalent an das Enzym, so dass das Substrat (rot) nicht mehr binden kann.

Abbildung 2.2 zeigt die Situation bei einem kompetitiven Inhibitor. Das Substrat und der reversibel bindende Inhibitor (schwarz) konkurrieren um das Enzym. Bindet der Inhibitor an das Enzym, so ist der Katalysemechanismus unterbrochen und das Substrat wird nicht umgesetzt. Allosterische Inhibitoren binden nicht im aktiven Zentrum, sondern an einer anderen Position (Abbildung 2.3). Dadurch wird die dreidimensionale Struktur des Enzyms verändert und das Substrat kann nicht mehr binden und umgesetzt werden. In Schema 2.4 ist die Situation bei einem irreversiblen Inhibitor dargestellt. Der Inhibitor (orange) bindet an das Enzym und nutzt die Anwesenheit einer nukleophilen Gruppe, beispielsweise Serin oder Cystein aus. Das Nukleophil bindet an den Inhibitor unter Ausbildung eines stabilen Produktes und das Enzym bleibt deaktiviert.

Die von DWYER *et al.* publizierte Rutheniumverbindung **19** war in der Lage Acetylcholinesterase zu inhibieren (Abbildung 6)^[22-25] Das Metall besaß hier ausschließlich strukturgebende Funktionen und ging keine chemische Bindung zum Protein ein. Die Wirkung des Inhibitors ging auf physikalische Wechselwirkung zurück, bedingt durch die Ladung sowie die besondere Geometrie der Verbindung.^[25]

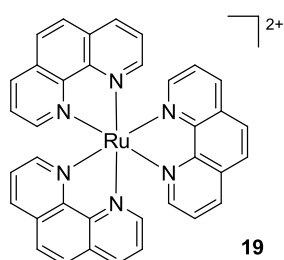


Abbildung 6: Der von DWYER *et al.* untersuchte Acetylcholinesterase-Inhibitor **19**.

Metalle besitzen im Vergleich zu rein organischen Inhibitoren den Vorteil, dass eine erweiterte Koordinationsgeometrie möglich ist. Organische Verbindungen können linear, trigonal planar oder tetraedisch vorliegen. Bei Metallverbindungen besteht die Möglichkeit der quadratisch planaren, quadratisch pyramidalen, der trigonal bipyramidalen und der oktaedrischen Koordination (Abbildung 7).

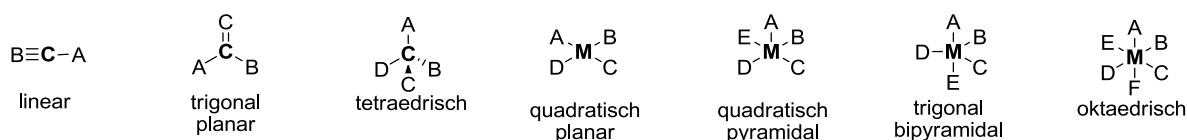


Abbildung 7: Erweiterte Koordinationssphäre des Metallatoms **M** im Vergleich zum Kohlenstoffatom **C**.

Gerade in biologischer Umgebung, wo dreidimensionale Strukturen vorliegen und die optimale Ausfüllung des chemischen Raumes zu einer hohen Affinität gegenüber Biomolekülen führt, kann diese erweiterte Koordinationsgeometrie von Vorteil sein. Das Konzept der Arbeitsgruppe MEGGERS, unter Verwendung von Metallkomplexen Enzyme zu inhibieren, verfolgt genau diesen Ansatz.^[26] Im Rahmen der Studien zur Entwicklung organometallischen Kinase-Inhibitoren zeigten sich die

Möglichkeiten und Vorteile gegenüber rein organischen Inhibitoren. Als Leitstruktur diente dabei der Naturstoff Staurosporin, ein Breitbandinhibitor, der wie ATP an die Scharnierregion der Kinase bindet.^[26] Die wichtigsten Wechselwirkungen des Staurosporins **20** (rot) wurden analysiert und auf das Inhibitor-Design **21** übertragen. Das Metall wurde an der Position des Kohlenhydratrestes eingebunden (Abbildung 8). Auf diese Weise wurden potente und hochselektive Verbindungen erhalten.^[27]

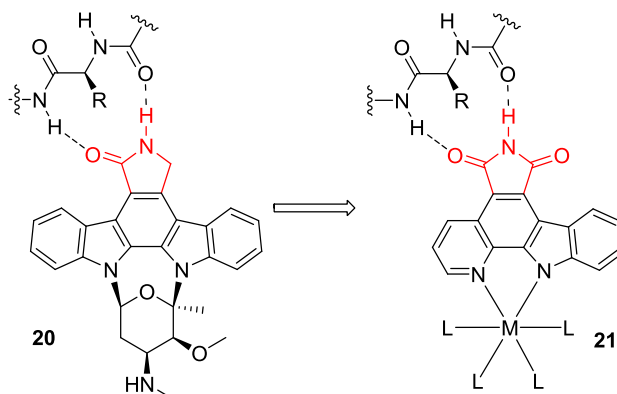


Abbildung 8: Vorgehen beim Design organischer Kinase-Inhibitoren. Die wichtigen Wechselwirkungen des Naturstoffs Staurosporin **20** mit der Scharnierregion (rot) flossen beim Design des Pyridocarbazolliganden ein. Mit diesem Liganden wurden anschließend verschiedene Metallkomplexe **21** erhalten.

Durch die Auswahl der Liganden am Metallzentrum konnten verschiedene Kinasen selektiv adressiert werden. Zwei eindrucksvolle Beispiele für die Abhängigkeit der Selektivität von der Ligandenauswahl sind in Abbildung 9 gezeigt.^[28]

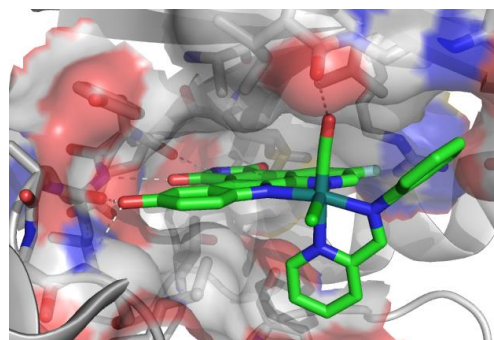
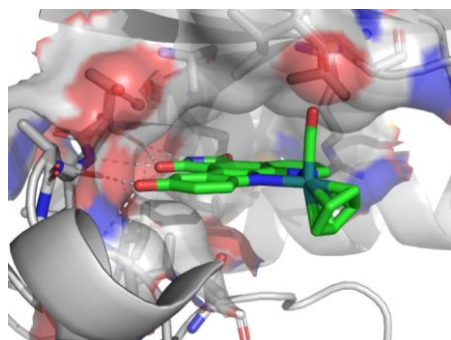
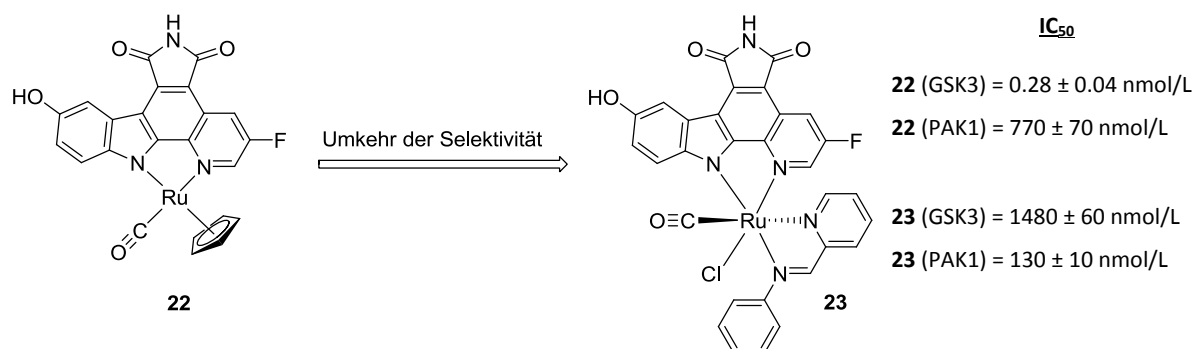
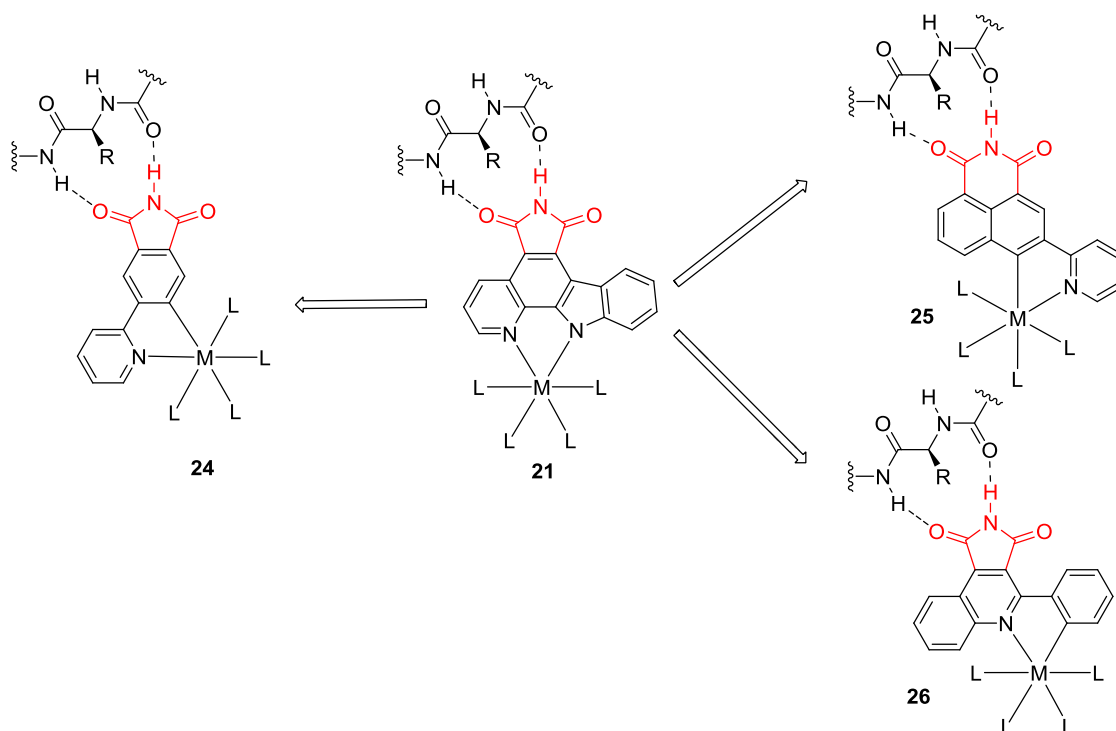


Abbildung 9: Konzept der organometallischen Kinase-Inhibitoren. Oben: Durch Austausch des Metallfragmentes kann die Selektivität beeinflusst werden. Unten: Vergleich der Kokristallstrukturen des Halbsandwichkomplexes DW12 (links) und des oktaedrischen Komplexes Λ -FL-172 (**23**) (rechts) im aktiven Zentrum von PAK1 (PDB: 3FY0 und 3FXZ).^[28]

So wurde mit dem Komplex NP309 **22** ein potenter GSK3-Inhibitor synthetisiert ($IC_{50} = 0.28 \pm 0.04$ nmol/L). Dagegen wurde die Kinase PAK1 wesentlich schlechter inhibiert ($IC_{50} = 770 \pm 70$ nmol/L). Durch Austausch des Metallfragments konnte diese Selektivität umgekehrt werden. Der Inhibitor Λ -FL-172 **23** inhibierte PAK1 mit einem IC_{50} -Wert von 130 ± 10 nmol/L, wogegen GSK3 mit einem IC_{50} -Wert von 1480 ± 60 nmol/L inhibiert wurde. Mit den Inhibitoren DW12, einem Derivat von NP309, bei dem lediglich das Fluoratom gegen Wasserstoff ausgetauscht wurde und FL-172 konnte jeweils eine Kokristallstruktur mit PAK-1 erhalten werden (Abbildung 9). Es ist deutlich zu erkennen, dass bei dem Halbsandwichkomplex DW12 die Wechselwirkungen zwischen dem Cyclopentadienylliganden und der Enzymoberfläche nicht ideal sind. Der oktaedrische Komplex **23** dagegen kann durch den axial ausgerichteten Pyridylrest hydrophobe Wechselwirkungen mit der ATP-Bindungstasche ausbilden. Abbildung 9 zeigt die Gültigkeit des von EMIL FISCHER 1894 formulierten Schlüssel-Schloss-Prinzips, was besagt, dass ideale Wechselwirkungen durch komplementäre dreidimensionale Strukturen erreicht werden können.^[29] Daran wird ein weiterer Vorteil der Verwendung organometallischer Inhibitoren deutlich: Die Ligandensphäre am Zentralatom kann mit relativ geringem synthetischen Aufwand verändert werden, wodurch sich die Selektivität drastisch ändert, obwohl der gleiche Pharmakophorligand benutzt wurde. In der nächsten Generation von Inhibitoren wurde die Synthese des Pyridocarbazzolliganden zum einen vereinfacht und zum anderen die Position des Metalls **24** – **26** im aktiven Zentrum der Kinasen variiert (Schema 3).^[30-32] Diese Modifikation ermöglichte die Inhibition anderer Kinasen und erweiterte das Inhibitorportfolio, so dass neben der Ligandensphäre auch Veränderungen am Pharmakophorliganden zu einem veränderten Selektivitätsprofil führten.



Schema 3: Variation des Pharmakophorliganden bei der Evaluation neuer Kinase-Inhibitoren **24** – **26**.

1.2 Chromophor-unterstützte Photodeaktivierung

Der Wirkungsort von Arzneimitteln kann über die lokale Aktivierung eines inaktiven Wirkstoffs, beispielweise durch Licht gesteuert werden.^[33] So lassen sich der Wirkungsort, die Zeit und die Dosierung sehr genau beeinflussen.^[34] Bei der Anwendung von CALI (engl.: chromophore assisted light inactivation) wird ein Chromophor über einen Linker an einen Inhibitor gebunden (Abbildung 10).^[34] Durch Bestrahlung mit Licht kann der Chromophor hoch reaktive Sauerstoff Spezies (allgemein ROS – reactive oxygen species) generieren.^[33,34] Zu diesen ROS gehören sowohl Singulett Sauerstoff, der eine besondere Rolle einnimmt, als auch verschiedene Sauerstoff-Radikalverbindungen.^[33,34]

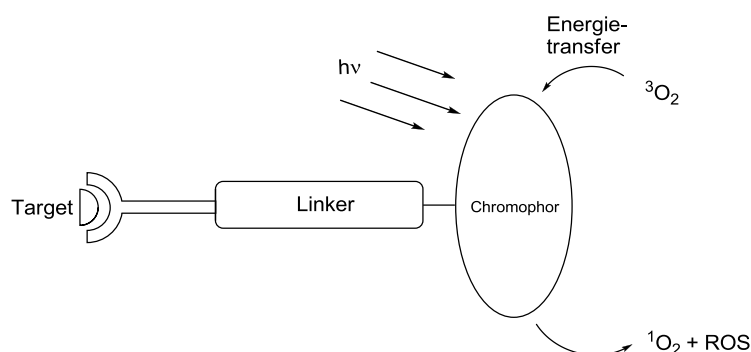


Abbildung 10: Schematischer Aufbau eines CALI-Inhibitors.

In ersten CALI-Studien stand die Untersuchung eines geeigneten Chromophors im Mittelpunkt, dabei wurden häufig Farbstoffe wie Fluorescein **27** und Malachitgrün **28** verwendet.^[34] Die Funktionalisierung über eine Isothiocyanatgruppe erhöhte die Effizienz der ROS-Produktion, wobei der Fluorescein-Isothiocyanat Chromophor dem Malachitgrün Chromophor überlegen ist (Abbildung 11).^[34]

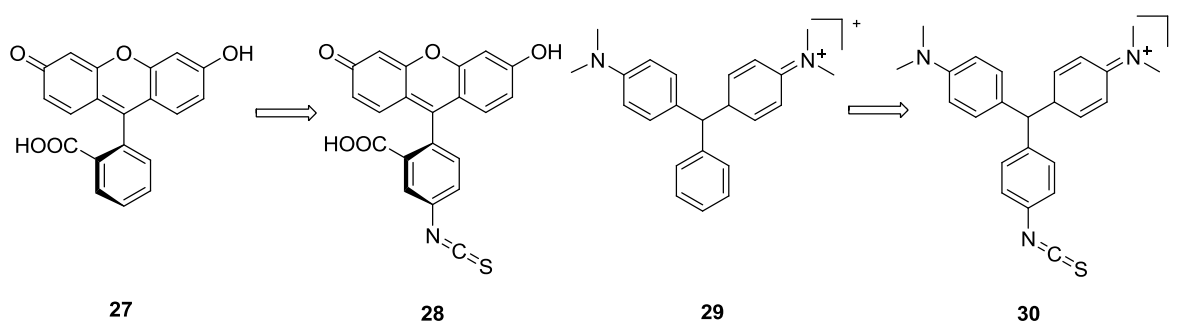


Abbildung 11: Struktur der organischen Standard-Chromophore Fluorescein **27** und Malachitgrün **29** sowie deren ITC-Derivate **28** und **30**.

In neueren Studien wurde die Verwendung von Proteinen wie KILLERRED als Chromophor^[35] sowie der Einsatz Umgebungs-sensitiver Chromophore, wo eine Donorgruppe über PeT (photoinduced electron transfer) in polarer Umgebung die Fluoreszenz des Chromophors löscht untersucht.^[36]

Die Auswahl des Chromophors ist essentiell, denn je nach Chromophor kann die Entstehung der verschiedenen ROS gesteuert werden. Malachitgrün wird mit einem gepulsten Laser angeregt und produziert in erster Linie verschiedene Hydroxylradikal-Spezies. Diese Radikale besitzen einen halbmaximalen Radius der Schädigung von 1.5 nm.^[33-37] Fluorescein dagegen produziert bei Belichtung mit einer Glühlampe Singulett Sauerstoff, welcher einen größeren Radius der Schädigung (etwa 3-4 nm) besitzt.^[33, 37] Dennoch kann CALI auch im Zellmedium durchgeführt werden, da der Protein-Protein Abstand in Zellen etwa 8 nm beträgt, so dass der bindende Inhibitor benachbarte Proteine nicht schädigt.^[33]

Singulett Sauerstoff ist in der Lage unter physiologischen Bedingungen mit bestimmten Aminosäuren der Proteine zu reagieren.^[38-40] Diese Reaktionen laufen sehr spezifisch ab, was ein Vorteil von Singulett Sauerstoff gegenüber den übrigen ROS darstellt.^[33] Mit Singulett Sauerstoff reagieren speziell die schwefelhaltigen Aminosäuren Cystein und Methionin, sowie die aromatischen Aminosäuren Tyrosin, Tryptophan und Histidin (Abbildung 12).^[40]

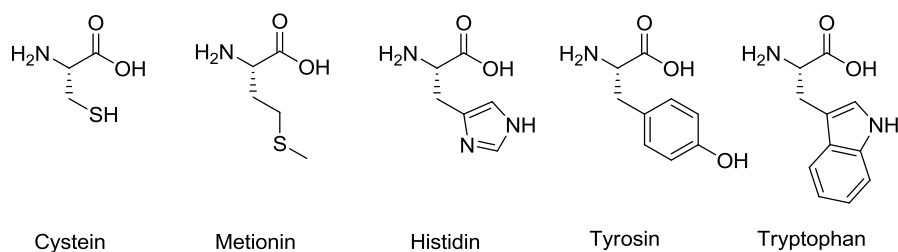
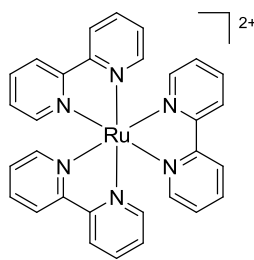


Abbildung 12: Aminosäuren, die unter physiologischen Bedingungen mit Singulett Sauerstoff reagieren.

Cystein und Methionin werden von Singulett Sauerstoff zu Sulfoxiden und Sulfonen oxidiert.^[33] Histidin reagiert in einer Diels-Alder ähnlichen Reaktion zu einem bemerkenswert stabilen Endoperoxid. In Studien von KELLEY *et al.* wurde ein Histidin-Polypeptid nach Reaktion mit Singulett Sauerstoff anschließend für DNA-Spaltungsreaktionen verwendet^[41] und über die Reaktion der Peroxide mit einem Farbstoff kann die Bildung von Singulett Sauerstoff nachgewiesen werden.^[42-44] Tyrosin bildet unter Singulett Sauerstoff Einfluss Radikale aus, die zu Tyrosinbrücken dimerisieren können^[45] und der Hinweis auf Dityrosinbrücken kann als Beleg von oxidativem Stress herangezogen werden.^[45] Tryptophan reagiert zu instabilen Peroxiden, aus welchen verschiedene Zerfallsprodukte entstehen.^[40] Beim diesem Zerfall werden Ketone und Aldehyde gebildet, die mit Hydrazinderivaten zu Hydrazonen als Nachweis der oxidativen Schädigung umgesetzt werden können.

Ein sehr effizienter, organometallischer Singulett Sauerstoff Photosensibilisator ist der $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ -Komplex **31** (Abbildung 13).^[46-48] Dieser erreicht eine Quantenausbeute von 0.41 in Wasser und 70% der angeregten Triplett Zustände reagieren mit Sauerstoff.^[49]



31

Abbildung 13: Struktur des $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ -Komplexes. Der Komplex ist ein bekannter Singulett Sauerstoff Photosensibilisator.^[46-48]

Metallkomplexe können aufgrund der Spin-Bahn-Kopplung sehr effizient in einen $^3\text{MLCT}$ -Zustand angeregt werden, wodurch Singulett Sauerstoff in höheren Ausbeuten erhalten wird.^[50] Angeregte Zustände können über Metall-Metall- (rot), Metall-Ligand- (blau), Ligand-Metall- (grün), und Ligand-Ligand-Übergänge (orange) erreicht werden (Abbildung 14a). Die Energie des angeregten Singulett-Zustandes kann anschließend über verschiedene Wege abgegeben werden, wie strahlungsfreie Relaxation (interne Konversion und vibronische Relaxation), Quenchen und Fluoreszenz. Des Weiteren kann ein Intersystem Crossing stattfinden, was zur Population des energetisch niedrigsten Triplett-Zustandes führt. Aus dem Triplett Zustand kann die Energie wiederum durch strahlungsfreie Relaxation, sowie langlebige Phosphoreszenz abgegeben werden (Abbildung 14b).^[51]

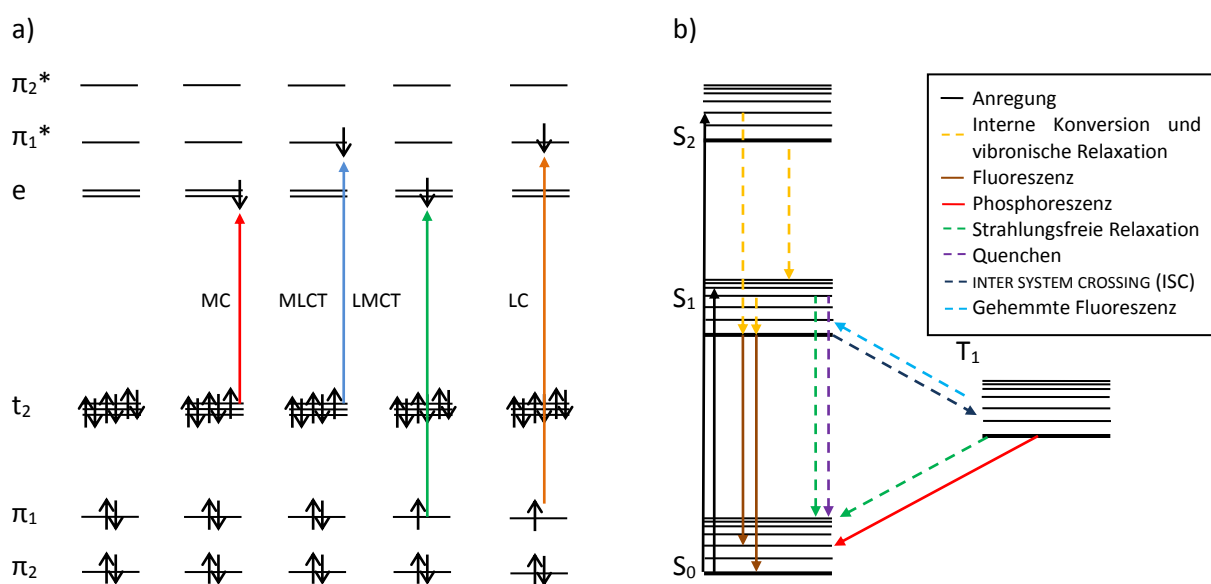


Abbildung 14: Elektronenübergänge bei der Anregung von Metallkomplexen durch Licht.^[51] a). Elektronische Struktur eines d^6 -Komplexes und die möglichen Arten der Anregung. Der metallzentrierte-Übergang ist rot, der Metall-Ligand-Übergang ist blau, der Ligand-Metall-Übergang grün und der Ligand-Ligand-Übergang braun dargestellt. b) Mögliche Abgabewege der Energie unter Berücksichtigung des INTER SYSTEM CROSSINGS zum Triplettzustand.

Das INTER SYSTEM CROSSING wird bei Metallkomplexen durch das Schwermetall-Ion begünstigt, so dass im Vergleich zu organischen Chromophoren die Dauer der Besetzung des Triplett-Zustandes kurz und die Quantenausbeuten im Allgemeinen sehr hoch sind.^[51] Dennoch ist der Triplett-Zustand

ausreichend lange besetzt, damit dieser an chemischen Reaktionen, wie Elektron- oder Wasserstofftransfer teilnehmen kann.^[51] Dies führt zu Radikalintermediaten, die in photodynamische Reaktionen des Typs 1 involviert sind.^[52] Wie oben bereits angemerkt basiert CALI auf Energietransfer zu einem geeigneten Akzeptor, häufig Triplett Sauerstoff, der zu Singulett Sauerstoff konvertiert wird (photodynamischen Reaktionen des Typs 2).^[52] Die Abläufe sind in Abbildung 15 dargestellt: Die Energie des Triplett Zustandes des Metallkomplexes wird auf den kurzlebigen $^1\Sigma_g$ -Zustand von Sauerstoff übertragen. Nach vibronischer Relaxation sind verschiedene Wege der Energieabgabe möglich. Direkte Relaxation in den $^3\Sigma_g$ -Grundzustand ist Spin-Verboten und findet nur in geringen Maßen statt. Die strahlungsfreie Relaxation sowie die Energieabgabe unter Fluoreszenz in den $^1\Delta_g$ -Zustand sind wesentlich wahrscheinlicher. Aus diesem Zustand kann Sauerstoff Typ 2 Reaktionen mit Biomolekülen eingehen.^[52]

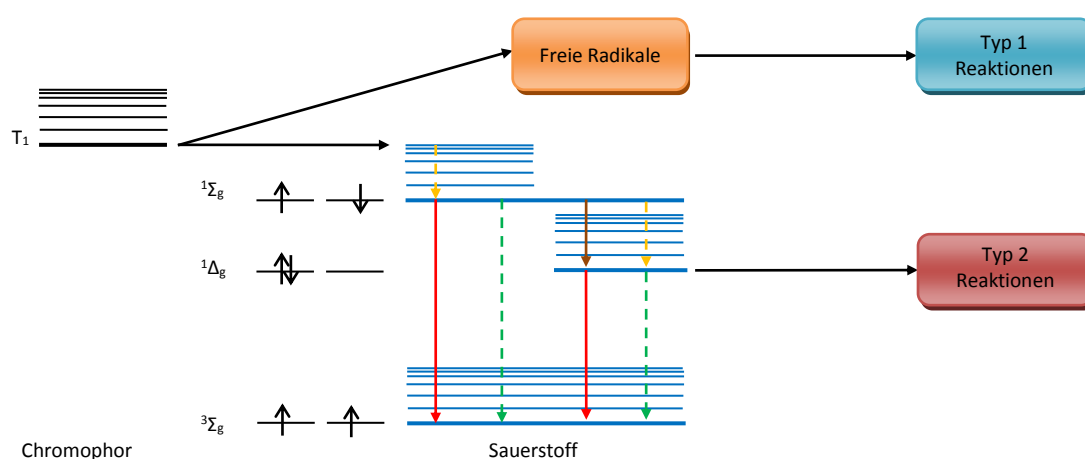
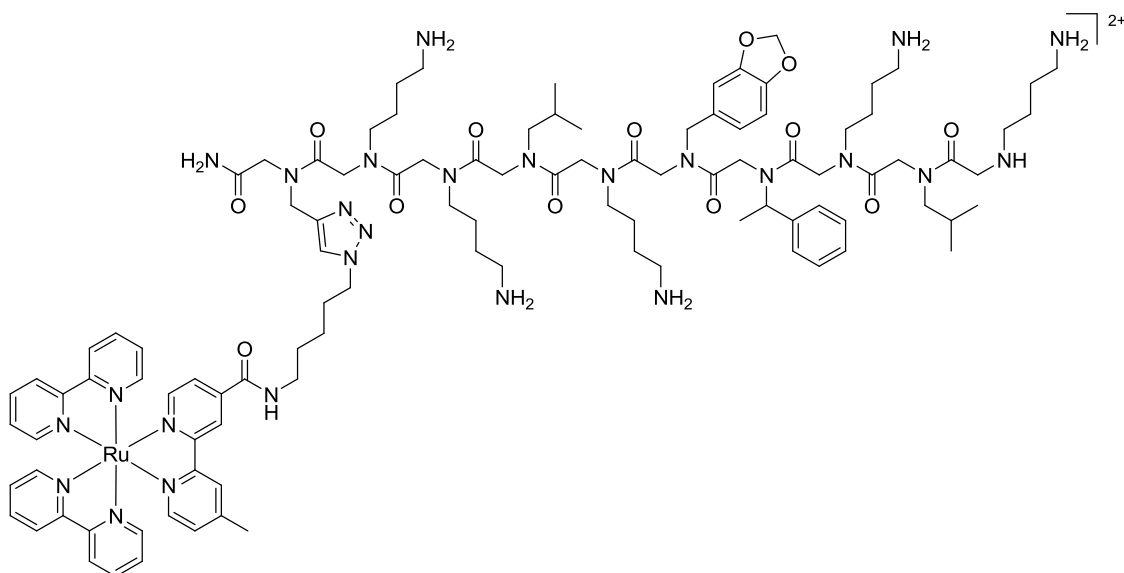


Abbildung 15: Elektronenübergänge bei der Anregung von Metallkomplexen durch Licht und Erzeugung der ROS durch Energieübertragung.^[52]

KODADEK *et al.* nutzten diese Reaktivität für die Entwicklung organometallischer CALI-Inhibitoren.^[46] In ersten Studien wurden ein an mutierte Luciferase gebundenes Halo Tag Protein (HTP) verwendet. Das Protein bindet Halogenalkylsubstrate über eine Esterbindung, die in einer mutierten Variante nicht hydrolysiert wird. So wurde Fluorescein und ein $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ -Komplex mit HTP verknüpft und die Eignung des Chromophors konnte über die Luciferase Aktivität untersucht werden.^[46] Wie zu erwarten war, produzierte der $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ -Komplex wesentlich effizienter Singulett Sauerstoff als der organische Chromophor Fluorescein. Nach Belichtung zeigte das $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ -verknüpfte HTP eine geringere Luciferaseaktivität als das Fluorescein-verknüpfte HTP. In der nächsten Generation der organometallischen CALI-Inhibitoren wurde der $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ -Komplex über Click-Chemie an ein Polypeptid mit hoher Selektivität für Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) gebunden (**32**, Abbildung 16).^[53] Zur Bestimmung der Aktivität wurde VEGF Endothelzellen ausgesetzt und die Aktivierung des VEGF Rezeptor2 (VEGFR2) bestimmt. Ohne Belichtung wurde durch Titration ein IC_{50} -

Wert von 49 $\mu\text{mol/L}$ bestimmt. Nach 10 min Belichtung mit einer Hochleistungslampe sank der IC_{50} -Wert auf 59 nmol/L. Dies entspricht einer 800-fachen Steigerung der Potenz und somit stellte die Verwendung eines organometallischen Chromophors einen interessanten Ansatz dar, um selektive und potente Inhibitoren zu entwickeln. Mit dieser Technik kann in der praktischen Anwendung der Wirkungsort des CALI-Inhibitors durch die Ausdehnung des Lichtkegels genau gesteuert werden.



32

Abbildung 16: Struktur des von KODAČEK *et al.* entwickelten CALI-Inhibitors.^[53]

1.3 Serinproteasen

Aufgrund des partiellen Doppelbindungscharakters der Amidbindung beträgt die Halbwertszeit der unkatalysierten Hydrolyse 10-1000 Jahre.^[54] Proteasen sind in Lage diese Hydrolysereaktionen um das 10^{10} -fache zu beschleunigen.^[55] Allgemein wird zwischen Serin-, Cystein-, Aspartyl- und Metalloproteasen unterschieden,^[56] wobei die Serinproteasen etwa ein Drittel aller bekannten Proteasen darstellen.^[55] Die Serinproteasen können in vier klassische Unterklassen mit unterschiedlicher Anordnung der katalytischen Triade unterteilt werden: Chymotrypsin- (His-Asp-Ser), Subtilisin- (Asp-His-Ser), Carboxypeptidase-Y- (Ser-Asp-His), und Clp-Protease-ähnliche Serinproteasen (Ser-His-Asp).^[57] Des Weiteren existieren sechs zusätzliche Klassen von Serinproteasen mit verschiedenen katalytischen Triaden und Dyaden mit einer wesentlich geringeren Anzahl an Vertretern.^[57] Die hohe Verwandtschaft in einer Gruppe spiegelt die beinahe identische Anordnung der katalytischen Triade wider (Abbildung 17).^[8]

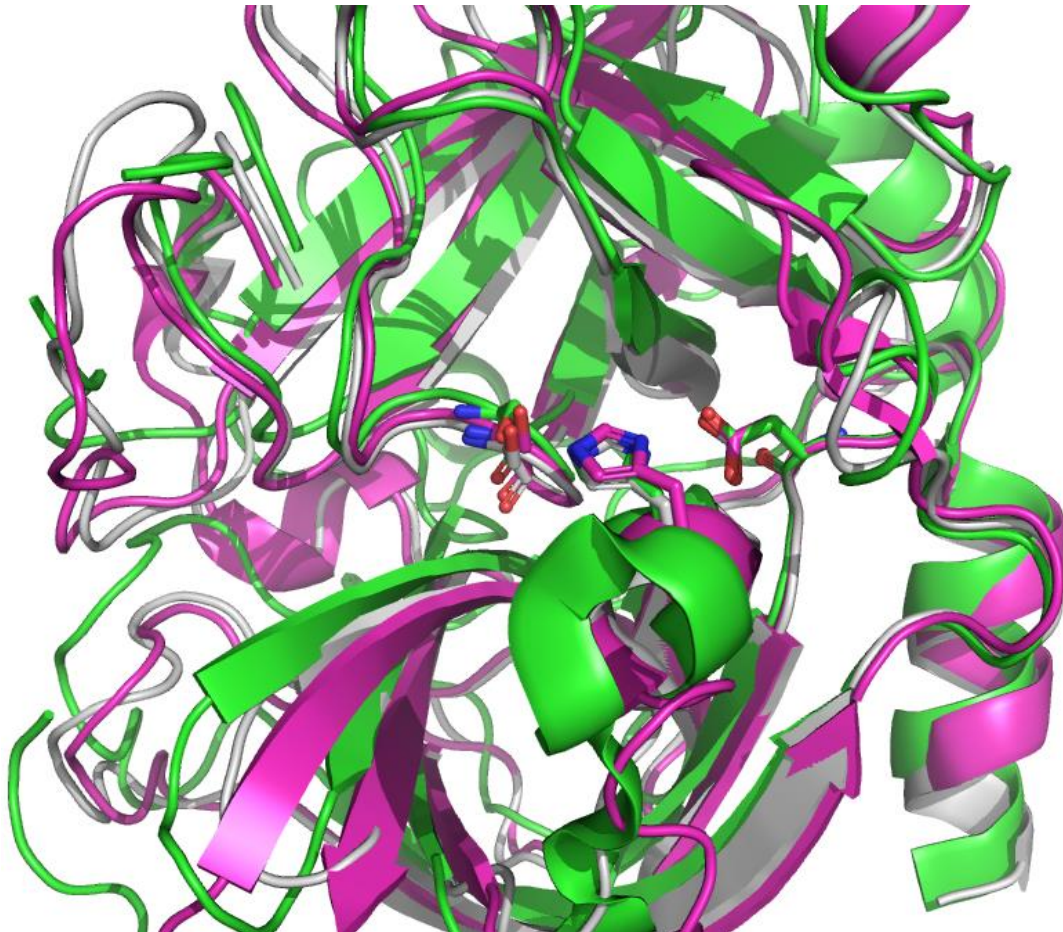


Abbildung 17: Überlagerung der katalytischen Triade der Enzyme Trypsin (grau), Thrombin (grün) und Urokinase (magenta) zur Verdeutlichung der strukturellen Verwandtschaft (PDB: 1Y3U, 2CF8 und 1OWE).

Diese Ähnlichkeit ist der Geometrie des nukleophilen Angriffs auf die Peptidbindung geschuldet.^[8] Am Beispiel der Chymotrypsin-artigen Serinproteasen soll der Mechanismus der Peptidspaltung im Folgenden erklärt werden.^[54] Per Definition wird die Amidbindung zwischen dem P1- und P1'-Rest

gespalten.^[58] Als P1-Rest fungiert bei Chymotrypsin in der Regel ein basischer Aminosäurenrest wie Arg oder Lys, welcher an Asp189 in der S1-Tasche binden kann (Abbildung 18), wobei der P1-Rest das wichtigste Substraterkennungsmerkmal für die Proteaseklasse ist. Die Ausfüllung der weiteren S-Taschen durch komplementäre Aminosäurereste P_x sorgt für nötige Substrataffinität, die für den nukleophilen Angriff nötig ist.^[59-61] Beispielsweise besitzt Trypsin als Breitbandprotease weniger ausgeprägte Enzymtaschen und somit eine größere Substratbreite, als ein hochspezialisiertes Enzym wie Thrombin, das in der Blutgerinnungskaskade im letzten Schritt Fibrinogen zu Fibrin umwandelt und somit eine Schlüsselrolle einnimmt.^[62] Die Affinität des Substrates wird zusätzlich durch eine antiparallele β -Faltblatt-artige Anordnung der Peptidkette gegenüber dem Protein-Rückgrat mittels Wasserstoffbrückenbindung generiert.^[55]

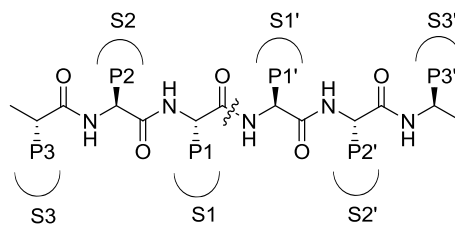
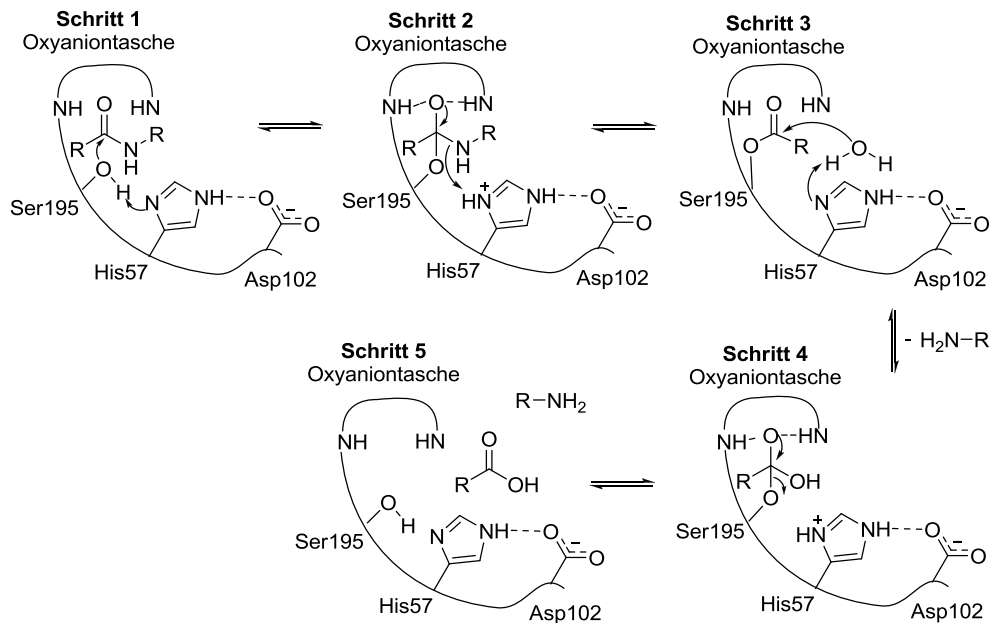


Abbildung 18: Nomenklatur der Substratreste und der Enzymtaschen entlang der zu spaltenden Bindung. Maximale Substrataffinität und Selektivität wird durch komplementäres Ausfüllen der Enzymtaschen erhalten (Schlüssel-Schloss-Prinzip).

Im ersten Schritt der Reaktion aktiviert Asp102 His57, dessen basischer Charakter somit deutlich zunimmt und Ser195 deprotoniert (Schema 4). Dadurch steigt die Nukleophilie des Ser195 und das Substrat wird nukleophil angegriffen. Eine entscheidende Rolle bei dem nukleophilen Angriff spielt die Oxyaniontasche, bestehend aus den Amid-NH-Gruppen von Ser195 und Gly193.^[62] Diese Tasche besitzt eine positive Oberflächenladung, wodurch die Bildung des tetraedrischen Intermediats unterstützt wird. Weitere Stabilisierung wird durch Bildung von Wasserstoffbrücken des Carbonylsauerstoffatoms des Substrates zu den Amid-NH-Gruppen erreicht. Durch Mutationsexperimente wurde bestätigt, dass die Reaktion immer noch etwa 10^3 -fach schneller als die unkatalysierte Reaktion verläuft, wenn die katalytische Triade deaktiviert wurde. Dieser Verstärkung entspricht damit der Beitrag der Oxyaniontasche.^[63,64] Das tetraedrische Intermediat zerfällt in Schritt 2 unter Abspaltung des primären Amins in das Acylenzymintermediat. Die Ausbildung des Acylenzymintermediats stellt in dieser Reaktionssequenz den Geschwindigkeitsbestimmenden Schritt dar und wurde durch Acyltransferexperimente nachgewiesen.^[65] Zusammenhängend mit der Bildung des Acylenzymintermediats sind die S-Taschen wesentlich deutlicher ausgeprägt als die S'-Taschen, bei welchen der abgespaltene Rest das Enzym möglichst schnell verlassen soll.^[66] Das Acylenzymintermediat wird in Schritt 3 von Wasser nukleophil angegriffen, wobei das Wasser durch Histidin deprotoniert und aktiviert wird. In Schritt 4 zerfällt das

tetraedrische Intermediat unter Abspaltung der Carbonsäure. Als Produkte dieser Reaktion werden in Schritt 5 eine Carbonsäure und ein Amin erhalten.^[55]



Schema 4: Mechanismus der Peptidspaltung durch Serinproteasen. Das Substrat bindet an die S1-Tasche und wird durch deprotoniertes Ser195 angegriffen. Das tetraedrische Intermediat wird durch Wechselwirkungen zur Oxyaniontasche stabilisiert, zerfällt und das Amin verlässt das Enzym. Anschließend wird das Acylenzymintermediat durch aktiviertes Wasser nukleophil angegriffen, das Intermediat zerfällt und die Carbonsäure verlässt das Enzym.

1.3.1 Ausgewählte Serinproteasen und rationales Inhibitor-Design

Die Chymotrypsin-artigen Serinproteasen stellen mit 301 Vertretern unter 538 bekannten Serinproteasen die größte Gruppe dar.^[55] Zu den interessanten Vertretern gehören die Enzyme Trypsin, Thrombin, Factor Xa und Urokinase. In der S1-Tasche der vier Proteasen befindet sich jeweils ein Asp-Rest, der für die Erkennung positiv geladener Seitenketten wie bei Lys oder Arg benötigt wird.^[55] Dies begründet die starke Verwandtschaft der vier Proteasen untereinander, sowie zu weiteren Enzymen: Cathepsin G, Faktor VIIa, Faktor IXa, Faktor XIa, Tryptase, Protein C und t-Plasminogen-Aktivator und Enteropeptidase.^[66] In Inhibitoren wird dabei häufig die basische Benzamidingruppe **33** als Mimetikum für diese Aminosäuren verwendet, da hier zusätzlich π - π -Wechselwirkungen zu aromatischen Aminosäuren in der S1-Tasche generiert werden (Abbildung 19).^[67]

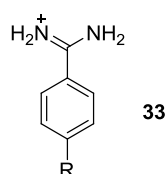


Abbildung 19: Struktur der Benzamidingruppe. Diese Gruppe bildet eine Salzbrücke zum Asp189 in der S1-Tasche.

Trypsin ist ein Verdauungsenzym mit einer sehr hohen Substratbreite, aber von Pankreatitis abgesehen ohne relevante therapeutische Bedeutung und wird häufig als Modellsystem bzw. Referenz in der Entwicklung neuer Inhibitoren verwendet. Es liegt im Zwölffingerdarm als inaktives Trypsinogen vor und wird durch Enteropeptidase in das aktive Trypsin umgewandelt. Die aktive Form ist dann für die Aktivierung weiterer Enzyme verantwortlich: Trypsin aktiviert Chymotrypsin, Elastase, Carboxypeptidase und Prolipase.^[54] Die Kokristallstruktur von Trypsin zusammen mit dem tricyclischen Lactaminhibitor **34** ist in Abbildung 20 dargestellt. Das Grundgerüst des Inhibitors bindet an Trypsin, Thrombin und mit Modifikationen auch an Faktor Xa.^[69] Das aktive Zentrum von Trypsin besitzt, wie für eine Breitbandprotease üblich, nur wenig ausgeprägte Enzymtaschen und ist leicht zugänglich. Die Amidgruppe bindet über eine Salzbrücke an Asp189 in der S1-Tasche und der hydrophobe Phenylring füllt diese Tasche durch π - π -Wechselwirkung optimal aus. Das starre tricyclische Lactamgerüst sorgt für die Minimierung entropischer Verluste, positioniert die Isopropylgruppe in der wenig ausgeprägten S2-Tasche und bildet mit dem Lactam-Carbonylsauerstoffatom eine Wasserstoffbrücke zu Gly216. Der 1,3-Benzodioxol-Rest bindet an die S3-Tasche,^[69] nimmt aber dabei in der Kokristallstruktur zwei unterschiedliche Orientierungen ein. Dies lässt vermuten, dass die Wechselwirkung nicht optimal ist und daher inhibiert Verbindung **34** Trypsin mit einem moderaten K_i von 9.90 $\mu\text{mol/L}$.

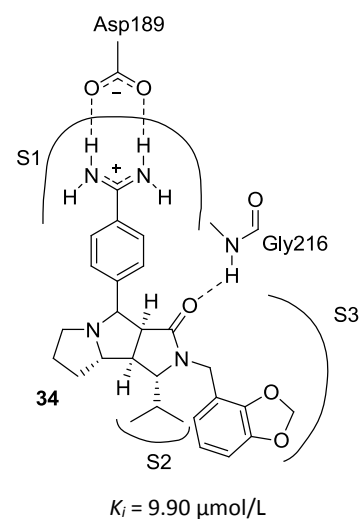
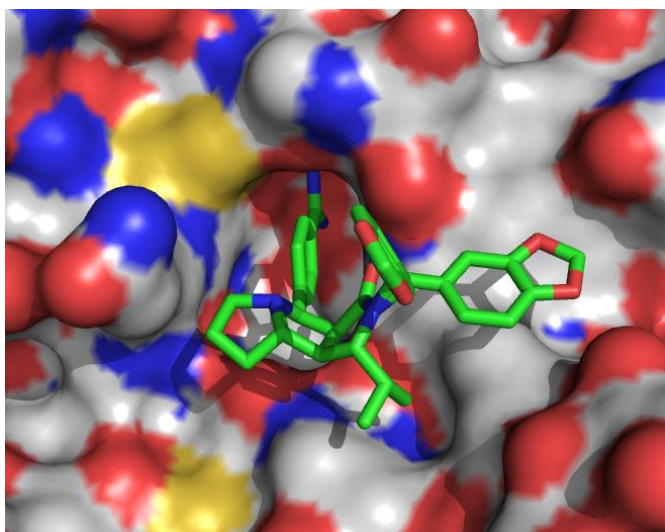


Abbildung 20: Links: Bindungsmodus des Lactaminhibitors in dem aktiven Zentrum von Trypsin. Rechts: Darstellung der wichtigsten Wechselwirkungen zwischen dem Liganden und dem Enzym (PDB: 1Y3U).

Ursprünglich wurden die Inhibitoren aus dieser Serie für Thrombin konzipiert.^[70-73] Thrombin ist ein hoch spezialisiertes Enzym mit einer wichtigen Aufgabe in der Blutgerinnung.^[74-76] In der Blutgerinnungskaskade, einer Kaskade von aufeinanderfolgenden Zymogenaktivierungen treffen zirkulierende Koagulationsfaktoren auf Gewebefaktoren.^[77] Thrombin steht am Ende dieses komplexen Regulierungsmechanismus aus intrinsischer und extrinsischer Aktivierung und setzt inaktives Fibrinogen in monomeres Fibrin um, das anschließend polymerisiert und von Faktor XIIIa zu

geordneten faserförmigen Strukturen vernetzt wird.^[54] Des Weiteren besitzt Thrombin direkten Einfluss auf Vorgänge in Zellen: Es beeinflusst beispielsweise die Form von Blutplättchen und die Freisetzung der Blutplättchen-Aktivatoren ADP, Serotonin Thromboxan A2 sowie Chemokine und Wachstumsfaktoren.^[78] Die Inhibition von Thrombin ist somit von therapeutischer Bedeutung bei der Behandlung von Schlaganfallpatienten sowie bei der Senkung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes bei Operationen. Abbildung 21 zeigt eine Kokristallstruktur des Inhibitors **35** zusammen mit Thrombin.^[73] Im Vergleich zu Trypsin fallen die wesentlich deutlicher ausgeprägten S-Taschen auf. Die Amidgruppe bindet wieder an Asp189 und der Phenylring füllt die S1-Tasche aus. Der tricyclische Baustein passt sich optimal der Enzymoberfläche an und der Ethylrest bindet an die hydrophobe S2-Tasche. Der Carbonylsauerstoff des Lactams bildet die Wasserstoffbrücke zum Gly216 und der Benzodioxol-Rest bindet an die S3-Tasche unter Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zum Tyr60a der Thrombinschleife. Bemerkenswert ist der Affinitätsunterschied zwischen Trypsin und Thrombin. Obwohl der Bindungsmodus der Inhibitoren sehr ähnlich ist, wird Thrombin mit einem K_i von 8 nmol/L beinahe 1240-fach stärker inhibiert als Trypsin.

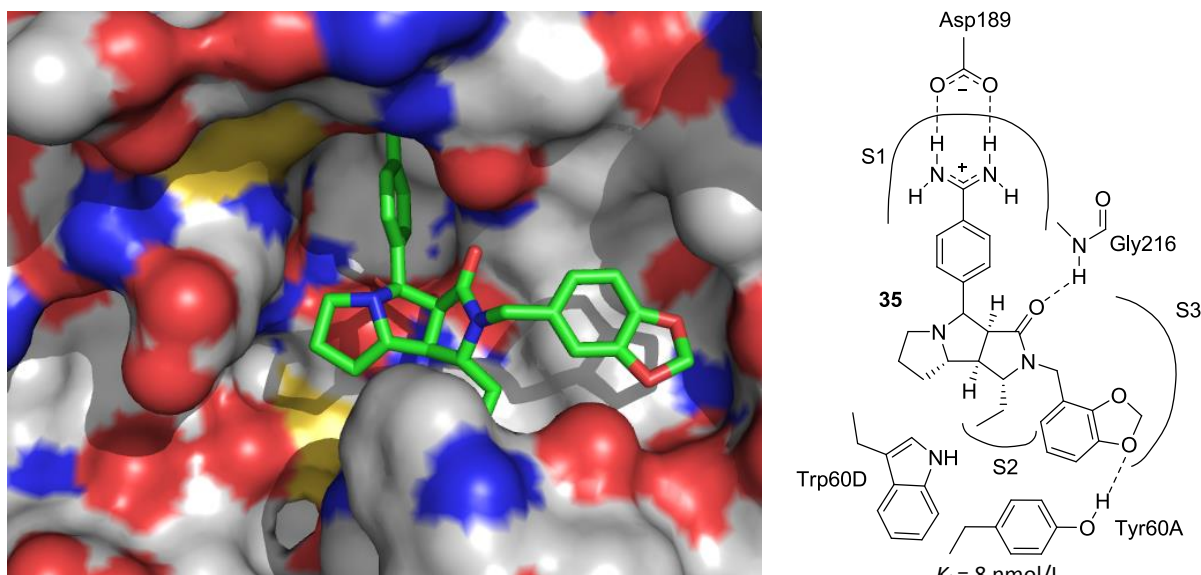


Abbildung 21: Links: Bindungsmodus des Lactaminhibitors in dem aktiven Zentrum von Thrombin. Rechts: Darstellung der wichtigsten Wechselwirkungen zwischen dem Liganden und dem Enzym (PDB: 1YPE).

Nach Modifikation konnte der Tricyclus auch als selektiver Faktor Xa-Inhibitor verwendet werden. Faktor Xa ist ebenfalls wie Thrombin in die Blutgerinnungskaskade involviert, es aktiviert Prothrombin zu Thrombin und ist als Knotenpunkt zwischen intrinsischer und extrinsischer Aktivierung ein ideales therapeutisches Ziel.^[74-76] Faktor Xa besitzt im Vergleich zu Trypsin und Thrombin eine größere S1-Tasche. Die S2-Tasche ist leicht zugänglich und die S3-Tasche zeigt eine Besonderheit. Dort sind hauptsächlich aromatische Aminosäure-Reste lokalisiert, wodurch das Potential der Enzymoberfläche besonders negativ ist.^[79] Dies haben DIEDERICH *et al.* ausgenutzt und bei dem Design eines tricyclischen Imid-Inhibitors dort ein quartäres Ammoniumkation positioniert.

Als Referenz diente ein Derivat mit einer *tert*-Butylgruppe an entsprechender Stelle und die Affinität zu Thrombin und Faktor Xa wurde verglichen.^[80] Von der Ammoniumverbindung wurde Thrombin mit einem K_i von 7.76 $\mu\text{mol/L}$ ungewöhnlich schlecht inhibiert, da energetische Verluste bei der Desolvatation des kationischen Restes nicht durch attraktive π -Kation Wechselwirkungen zu Trp216 in der S3-Tasche kompensiert werden konnten.^[80,81] Die *tert*-Butylverbindung entspricht mit einem K_i von 0.13 $\mu\text{mol/L}$ für Thrombin der Affinität anderer Inhibitoren mit großen aliphatischen Resten an dieser Position. Bei Faktor Xa invertiert diese Selektivität. Die kationische Verbindung ist mit einem K_i -Wert von 0.28 $\mu\text{mol/L}$ gegenüber der neutralen *tert*-Butyl-Verbindung mit einem K_i von 29 $\mu\text{mol/L}$ stark bevorzugt. Die Kokristallstruktur der Ammoniumverbindung **36** mit Faktor Xa ist in Abbildung 22 dargestellt. Der Inhibitor bindet über eine Salzbrücke an Asp189 und bildet zu Gly216 Wasserstoffbrücken aus. Die S2-Tasche ist kaum ausgeprägt, an dieser Stelle befindet sich ein Carbonylsauerstoff des Inhibitors. Die Propyleinheit positioniert das quartäre Ammoniumkation an einem hydrophoben, aber negativ polarisierten Bereich der Enzymoberfläche in der S3-Tasche. Diese drei Beispiele zeigen, dass es möglich ist mit dem gleichen Grundgerüst und leichten Modifikationen verschiedene Serinproteasen selektiv zu inhibieren.

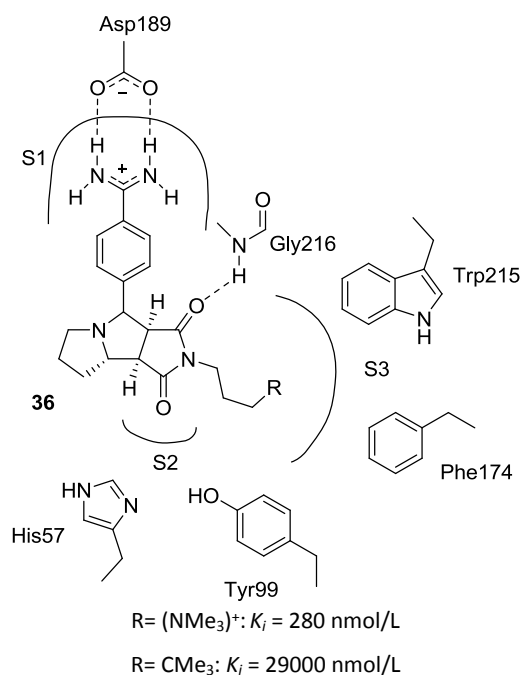
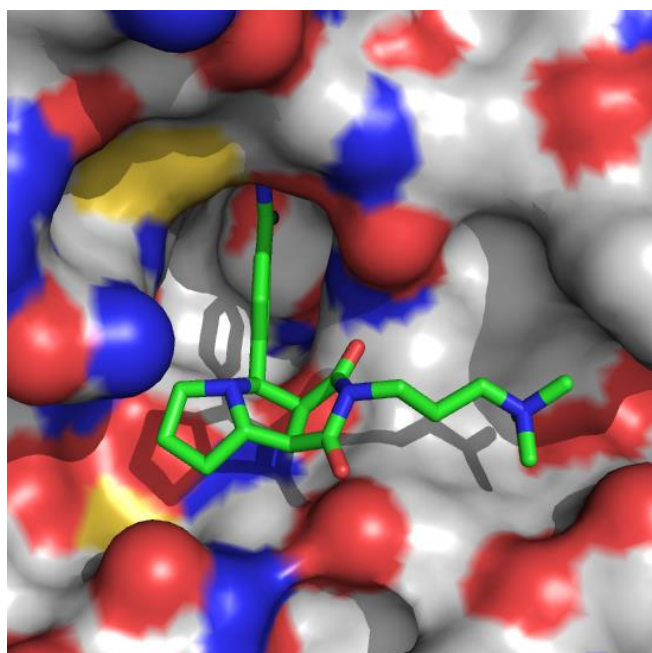


Abbildung 22: Links: Bindungsmodus des Imidinhibitors in dem aktiven Zentrum von Faktor Xa. Rechts: Darstellung der wichtigsten Wechselwirkungen zwischen dem Liganden und dem Enzym (PDB: 2BOK).

Als letztes Enzym soll Urokinase vorgestellt werden, ein Enzym, das Plasminogen in Plasmin umwandelt. Urokinase ist in viele physiologische Vorgänge involviert, aber auch in verschiedene Tumor-bezogene Prozesse wie Abbau der extrazellulären Matrix, Invasion, Angiogenese und Metastasenbildung.^[83-85] Das Enzym besitzt eine tiefe S1-Tasche, eine gering ausgeprägte S2-Tasche und eine markante S4-Tasche. Der Gln192-Rest ragt sehr weit in Richtung S1-Tasche und bildet die

Begrenzung für die S1 β -Tasche, die durch aromatische Reste ausgefüllt werden kann. In Abbildung 23 ist der von WENDT *et al.* entwickelter Inhibitor **37** gezeigt.^[85,86]

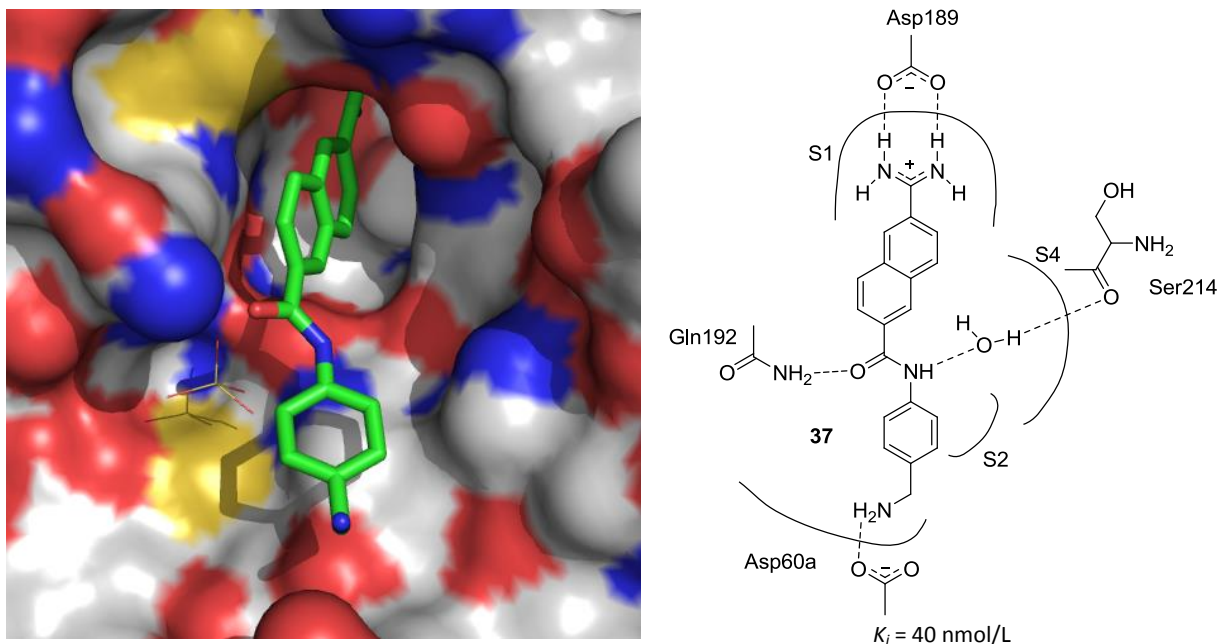
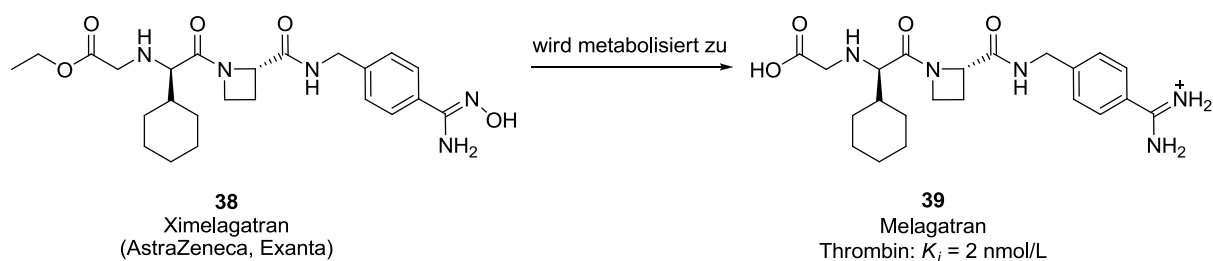


Abbildung 23: Links: Bindungsmodus des Inhibitors in dem aktiven Zentrum von Urokinase. Rechts: Darstellung der wichtigsten Wechselwirkungen zwischen dem Liganden und dem Enzym (PDB: 1OWH).

Hier dient eine Naphthamidingruppe als Lysin-Mimetikum und die Amidbindung bildet eine Wasserstoffbrückenbindung zu Gln192 sowie eine Wasser vermittelte Wasserstoffbrückenbindung zu Ser214. Einen ebenfalls wichtigen Bindungsbeitrag leistet die Aminomethylgruppe mit einer Wasserstoffbrückenbindung zu Asp60a. Mit diesem Design gelang es einen selektiven Urokinase-Inhibitor zu erhalten. Urokinase wird von dieser Verbindung mit einem K_i von 40 nmol/L inhibiert, wobei der K_i für Trypsin 2080 nmol/L und für Thrombin >100000 nmol/L beträgt.^[86]

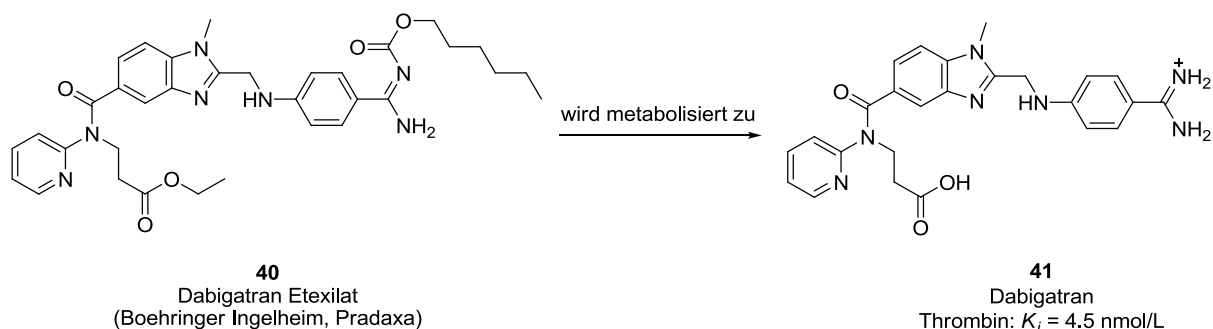
1.3.2 Inhibitoren in klinischen Tests

Gerade die basische und kationisch geladene Amidingruppe wirkt sich negativ auf die Bioverfügbarkeit aus, zeigt jedoch die höchste Affinität gerade bei Thrombin-Inhibitoren. In bereits zugelassenen Medikamenten sind daher Prodrug-Strategien zu finden. Das erste oral verfügbare Medikament Ximelagatran^[8] **38** der Firma AstraZeneca stellt ein doppeltes Prodrug der Verbindung Melagatran^[8] **39** dar. Die neutrale und wesentlich lipophilere Verbindung kann den Gastrointestinaltrakt passieren und wird zu Ximelagatran **39** metabolisiert, was zu einer Bioverfügbarkeit von 18-24% führt (Schema 5).^[87] In klinischen Untersuchungen galt das Medikament als vielversprechend,^[88-91] musste aber aufgrund von Lebertoxizität nach zwei Jahren wieder vom Markt genommen werden.



Schema 5: Metabolisierung von Ximelagatran **38** zu Melagatran **39**.

Der seit 2008 erhältliche Thrombin-Inhibitor Dabigatran Etxilat **40** der Firma Boehringer Ingelheim stellt ein doppeltes Prodrugderivat des eigentlichen Wirkstoffs Dabigatran **41** dar. Bei dieser Verbindung beträgt die Bioverfügbarkeit 6-7% (Schema 6).^[92]



Schema 6: Metabolisierung von Dabigatran Etxilat **40** zu Dabigatran **41**.

Ein besonders affiner, nicht-basischer Faktor Xa-Inhibitor ist Apixaban **42** der Firma Pfizer/BMS mit einem K_i von 0.08 nmol/L. Dabei handelt es sich um einen nicht-basischen Inhibitor bei dem ein *p*-Methoxybenzolrest in die S1-Tasche bindet. Marktreife hat die Verbindung Rivaroxaban **43** der Firma Bayer erlangt und erschien im Jahr 2008 als erster oral verabreichbarer Faktor Xa-Inhibitor auf dem Markt. Auch hier handelt es sich um eine nicht-basische Verbindung, ein Chlorthienyl-Rest bindet über Halogen- π Wechselwirkung an die S1-Tasche. (Abbildung 24).^[86]

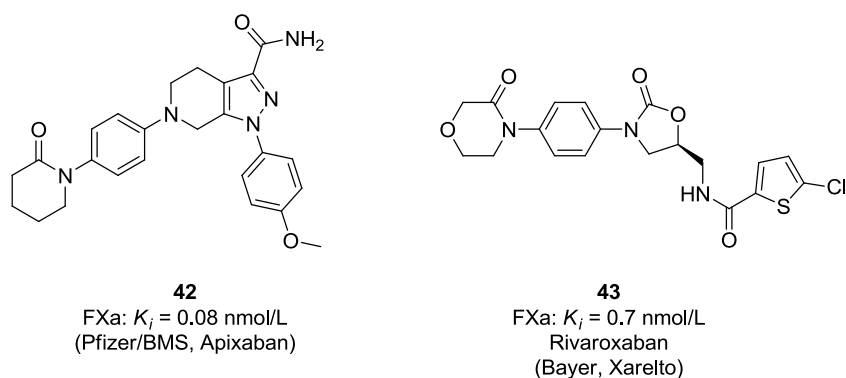


Abbildung 24: Faktor Xa Inhibitoren in klinischen Tests (**42**), bzw. mit Marktreife (**43**).

Bei Urokinase sind die Bemühungen weniger weit fortgeschritten. Verbindung **44** von Willex befand sich 2005 in der klinischen Phase II (Abbildung 25).^[93] Dabei zeigt der Inhibitor nur moderate Affinität mit einem K_i von 410 nmol/L gegenüber Urokinase. Die Selektivität ist ebenfalls nicht sehr

ausgeprägt, Plasmin wird mit einem K_i von 390 nmol/L, Thrombin mit 490 nmol/L und Trypsin sogar mit einem K_i von 37 nmol/L inhibiert.^[93,94]

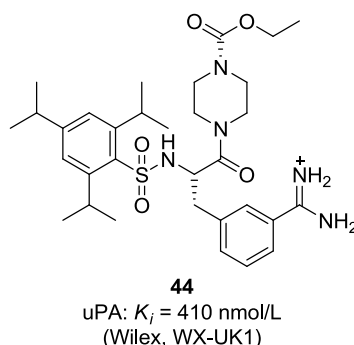
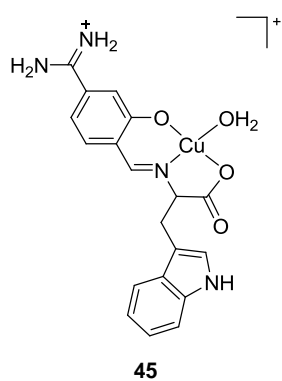
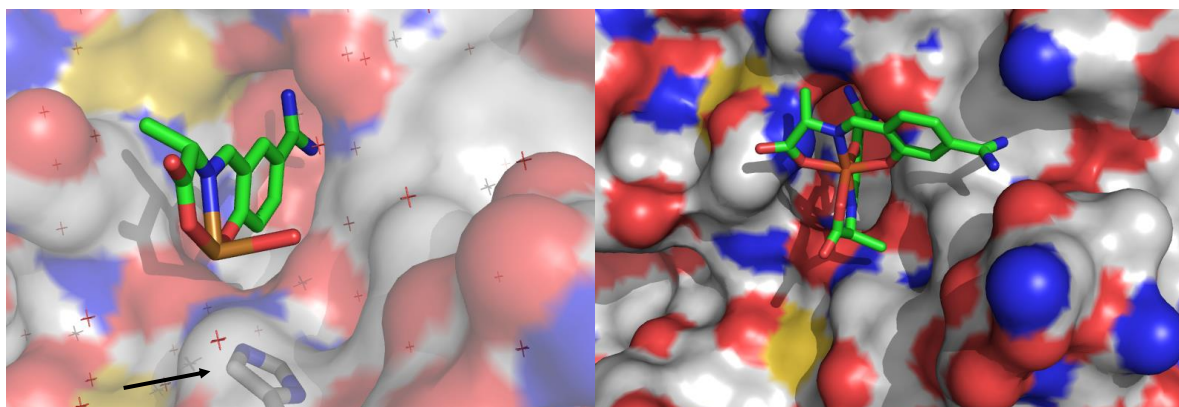


Abbildung 25: Verbindung **44** von Wilex als Urokinase Inhibitor in klinischen Tests.

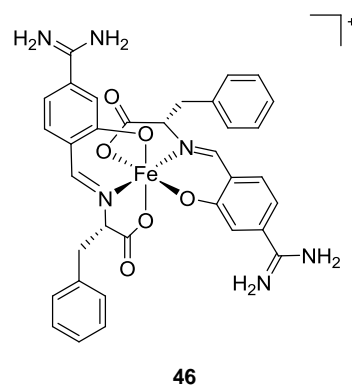
Obwohl für die Enzyme bereits sehr selektive und potente Inhibitoren existieren, ist die weitere Forschung und Entwicklung auf diesem Gebiet notwendig. Gerade das Beispiel Ximelagatran zeigt, dass immer unvorhersehbare Nebenwirkungen auftreten können.

1.3.3 Organometallische Serinprotease-Inhibitoren

Das Konzept der Verwendung metallorganischer Serinprotease-Inhibitoren wurde bereits von TANIZAWA *et al.* verfolgt. In Eintopf-Synthesen mit verschiedenen α -Aminosäuren, den entsprechenden Metall-Ionen und Formylhydroxybenzamidin wurde eine Bibliothek aus Kupfer(II)- und Eisen(III)-Verbindungen erhalten, die bezüglich ihrer Inhibition von Serinproteasen untersucht wurde.^[94-96] Dabei wurde eine Kupfer(II)-Verbindung **45** mit einem K_i für Thrombin von 27 nmol/L gefunden. Mit Trypsin konnte eine Kokristallstruktur erhalten werden, womit sich auch für Thrombin der Bindungsmodus ableiten ließ. Es zeigte sich, dass der His57-Rest der katalytischen Triade an eine freie Koordinationsstelle des Kupfers bindet und so konnte die Affinität wesentlich gesteigert werden, wobei die Koordinationsfähigkeit des His57-Restes bereits in anderen Studien analysiert wurde.^[97] Daneben wurden oktaedrische Eisen(III)-Verbindungen untersucht und hier spielte der Rest der verwendeten Aminosäure eine entscheidende Rolle in der Ausfüllung der S2-Tasche. Der beste Inhibitor **46** für Thrombin zeigte einen K_i von 180 nmol/L und es konnte mit einem Derivat der Verbindung eine Kokristallstruktur mit Trypsin erhalten werden (Abbildung 26). Problematisch an diesen Verbindungen ist die geringe Stabilität, sowie die Möglichkeit der Beteiligung von Eisen und Kupfer an Redox-Chemie.



Thrombin: $K_i = 27 \text{ nmol/L}$



Thrombin: $K_i = 180 \text{ nmol/L}$

Abbildung 26: Literaturbekannte organometallische Thrombininhibitoren. Oben: Kristallstrukturen der Inhibitoren **45** und eines Derivates von **46** mit Trypsin. Das an das Metall koordinierende His57 ist hervorgehoben. Unten: Darstellung der potentesten Inhibitoren für Thrombin (PDB: 1G3C, 1G3D).^[94-96]

Kapitel 2

Aufgabenstellung

Organometallische Verbindungen als Kinase-Inhibitoren

Organometallische Verbindungen sind in der Lage durch Ausweitung der Koordinationszahl im Vergleich zu rein organischen Verbindungen globuläre dreidimensionale Strukturen auszubilden. MEGGERS *et al.* nutzten diese Fähigkeit der Metallkomplexe, um das aktive Zentrum von Enzymen aus der Kinasefamilie optimal auszufüllen. Unter Verwendung stabiler und kinetisch inerter Komplexe wurde 2004 der erste organometallische Pyridocarbazol-Kinase-Inhibitor publiziert. Das Metallzentrum geht bei diesen Verbindungen keine Interaktion mit dem Enzym ein, sondern besitzt lediglich strukturgebende Funktion und richtet die Liganden in dem aktiven Zentrum der Kinase aus. In ersten Studien wurden pseudooktaedrische Halbsandwichkomplexe verwendet, aber in weiteren Optimierungsprozessen kamen oktaedrisch koordinierte Metallkomplexe zum Einsatz, die sich in der Inhibition anderer Kinasefamilien von den Halbsandwichkomplexen unterschieden.

Übertragung des Konzeptes auf andere Enzymklassen

Das Konzept wurde in verschiedenen Projekten auf weitere Enzymklassen übertragen. Aktuelle Zielenzymklassen und Zielenzyme sind zurzeit: Serinproteasen, Carboanhydrasen, Histondeacetylasen, Acetylcholinesterase, und Poly(ADP-ribose)-Polymerase 1.

Diese Arbeit behandelt die Entwicklung organometallischer Serinprotease-Inhibitoren unter Verwendung des Metallzentrums als strukturgebendes Merkmal, aber auch unter Ausnutzung der photochemischen Eigenschaften der Metallkomplexe bei der Entwicklung von CALI-Inhibitoren (chromophore assisted light inactivation – Chromophor-unterstützte Photodeaktivierung).

Kapitel 3

Eigene Arbeiten

3.1 Bipyridinamidine als Serinprotease-Inhibitoren

In vorangegangenen Arbeiten wurden bereits metallorganische Serinprotease-Inhibitoren entwickelt (Abbildung 27).^[98] Es wurde ein Bipyridin-Ligand **47** synthetisiert und zum Ruthenium-Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplex **48** sowie zum Ruthenium-Bipyridinkomplex **49** umgesetzt.

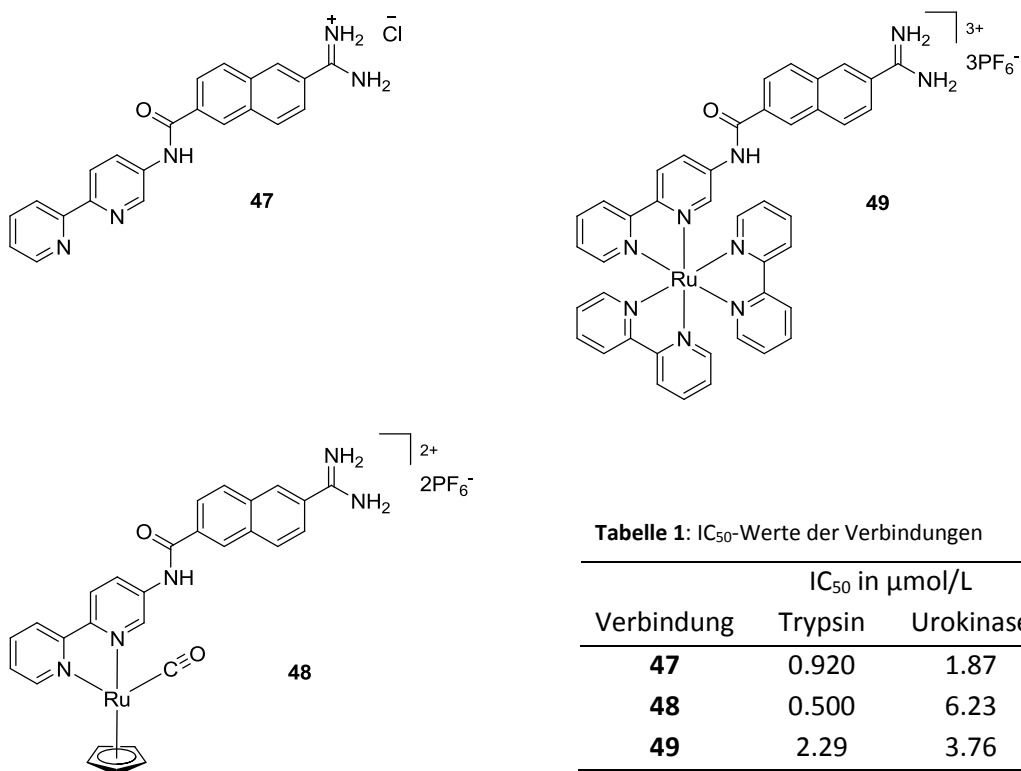


Tabelle 1: IC₅₀-Werte der Verbindungen

Verbindung	IC ₅₀ in µmol/L		
	Trypsin	Urokinase	Thrombin
47	0.920	1.87	15.2
48	0.500	6.23	6.63
49	2.29	3.76	10.5

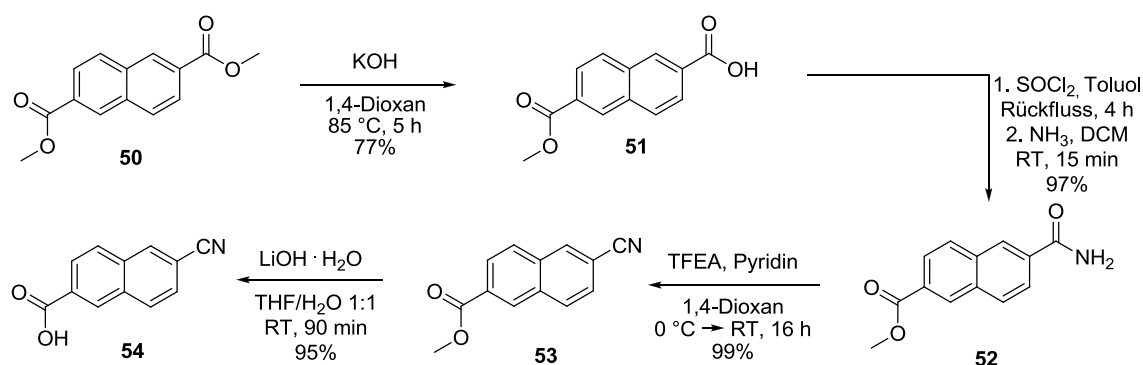
Abbildung 27: In vorangegangenen Arbeiten bereits untersuchte Verbindungen. Die Verbindungen **47** – **49** wurden gegen die Serinproteasen Trypsin, Urokinase und Thrombin getestet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt.

Die Verbindungen wurden gegen Trypsin, Thrombin und Urokinase getestet und es zeigte sich eine bevorzugte Trypsin-Selektivität bei allen Verbindungen. Halbsandwichkomplex **48** wurde als potenteste Verbindung mit einem IC₅₀-Wert von 500 nmol/L gegenüber Trypsin und elffacher Selektivität gegenüber Urokinase und Thrombin identifiziert. Verbindungen **47** und **49** zeigten

ebenfalls eine bevorzugte Inhibition von Trypsin, die Selektivität lag hier jedoch im zwei- bis fünffachen Bereich. Aufbauend auf diesen Ergebnissen sollten weitere Komplexe synthetisiert werden, um die Selektivität und die Potenz zu steigern. Speziell oktaedrische Komplexe sollten durch die globuläre Struktur stärkere Wechselwirkung mit der Enzymoberfläche eingehen können.

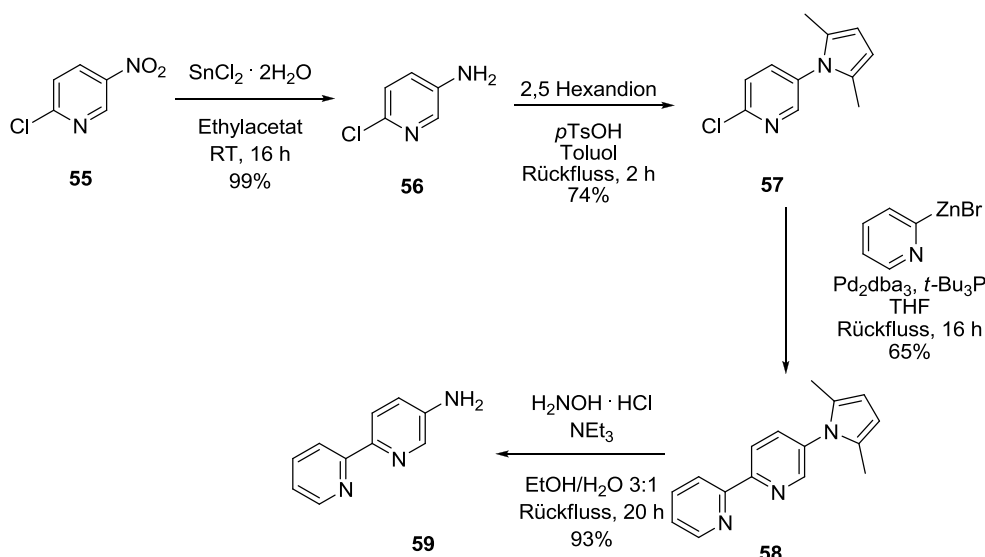
3.1.1 Ligandendesign und -synthese

Der Ligand **47** wurde wie in vorangegangenen Arbeiten^[98] aus den literaturbekannten Bausteinen **54** und **59** hergestellt (Schema 7, Schema 8). Baustein **54** wurde wie von WENDT *et al.* beschrieben ausgehend von Dimethylnaphthalin-2,6-dicarboxylat **50** hergestellt.^[86] Die Esterfunktion wurde in 1,4-Dioxan einseitig basisch in 77% Ausbeute hydrolysiert (**51**), anschließend durch Reaktion mit Thionylchlorid in Toluol und Umsetzung mit Ammoniak in das primäre Amid (**52**) mit 97% Ausbeute überführt. Durch Reaktion mit Trifluoressigsäureanhydrid in 1,4-Dioxan wurde das Nitril **53** in 99% Ausbeute erhalten. Im letzten Schritt wurde die verbleibende Esterfunktion mit Lithiumhydroxid in einem Gemisch aus Tetrahydrofuran und Wasser (1:1) zu 6-Cyano-2-naphthalincarbonsäure **54** in 95% Ausbeute umgewandelt.



Schema 7: Synthese des Schlüsselbausteins **54** ausgehend von Dimethylnaphthalin-2,6-dicarboxylat **50** in einer vierstufigen Reaktionssequenz.

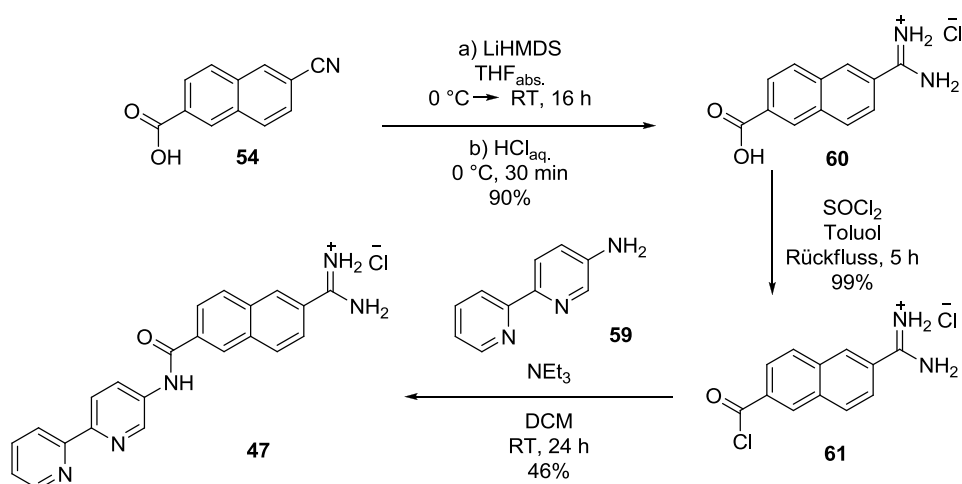
5-Amino-2,2'-bipyridin **59** wurde in einer vierstufigen Synthese nach LÜTZEN *et al.* synthetisiert (Schema 8).^[99] Als Startpunkt diente 2-Chlor-5-nitropyridin **55**, das mit Zinn(II)chlorid in Ethylacetat zu 5-Amino-2-chlorpyridin **56** reduziert wurde.



Schema 8: Synthese des Schlüsselbausteins **59** ausgehend von 2-Chlor-5-nitropyridin **55** in einer vierstufigen Reaktionssequenz.

Die Aminofunktion wurde mit 2,5-Hexandion in Toluol, katalysiert durch *para*-Toluolsulfonsäure in 74% Ausbeute als Pyrrol **57** geschützt. Mittels einer Palladium-katalysierten NEGISHI-Kreuzkupplung in Tetrahydrofuran wurde das geschützte Bipyridin **58** erhalten. Die Pyrrolschutzgruppe wurde durch Reaktion mit Hydroxylamin-Hydrochlorid in einem Gemisch aus Ethanol und Wasser 3:1 entfernt und 5-Amino-2,2'-bipyridin **59** wurde in 93% Ausbeute isoliert.

Die Nitrilfunktion der Naphthalincarbonsäure **54** wurde durch Reaktion mit LiHMDS und anschließender Hydrolyse der Trimethylsilylgruppen^[100] im sauren Medium mit 90% Ausbeute in die Amidgruppe überführt. Darauf wurde Verbindung **60** mit Thionylchlorid in Toluol zum Säurechlorid **61** quantitativ umgesetzt und im letzten Schritt mit 5-Amino-2,2'-bipyridin **59** über eine Amidbindung miteinander verknüpft. Dies geschah unter Zusatz von Triethylamin in Dichlormethan und der Ligand **47** konnte in einer Ausbeute von 46% erhalten werden (Schema 9).

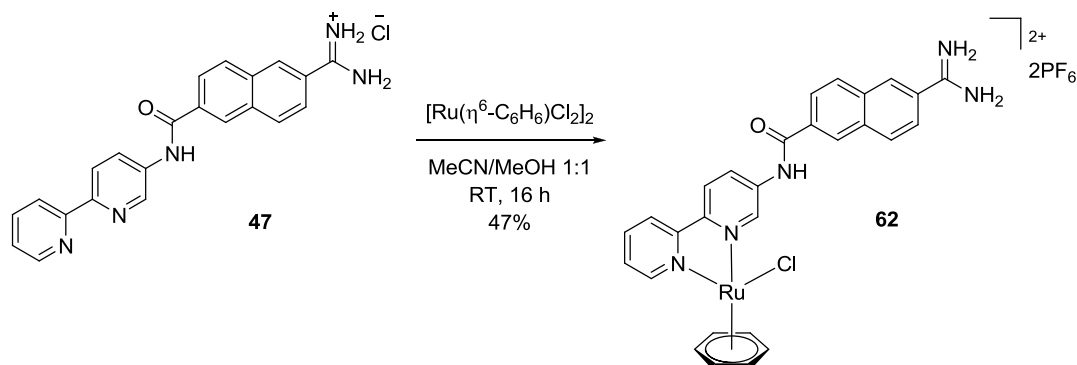


Schema 9: Synthese des Liganden **47** aus den Schlüsselbausteinen **54** und **59** in einer dreistufigen Reaktionssequenz.

3.1.2 Synthese der Metallkomplexe

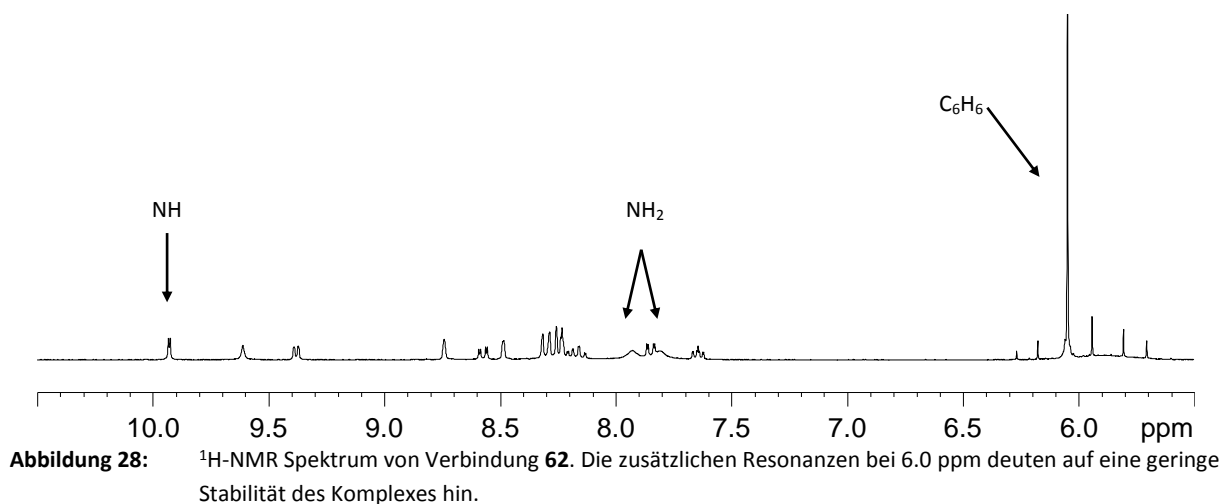
Synthese eines pseudooktaedrischen Benzol-Halbsandwichkomplexes

Für die Synthese eines weiteren Halbsandwichkomplexes wurde der Ligand **47** mit dem literaturbekannten Vorläufer $[\text{Ru}(\eta^6\text{-C}_6\text{H}_6)\text{Cl}_2]_2^{[101]}$ in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol (1:1) umgesetzt und der Komplex **62** in 46% Ausbeute erhalten (Schema 10).



Schema 10: Synthese des Halbsandwichkomplexes **62** in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol bei Raumtemperatur in 46% Ausbeute.

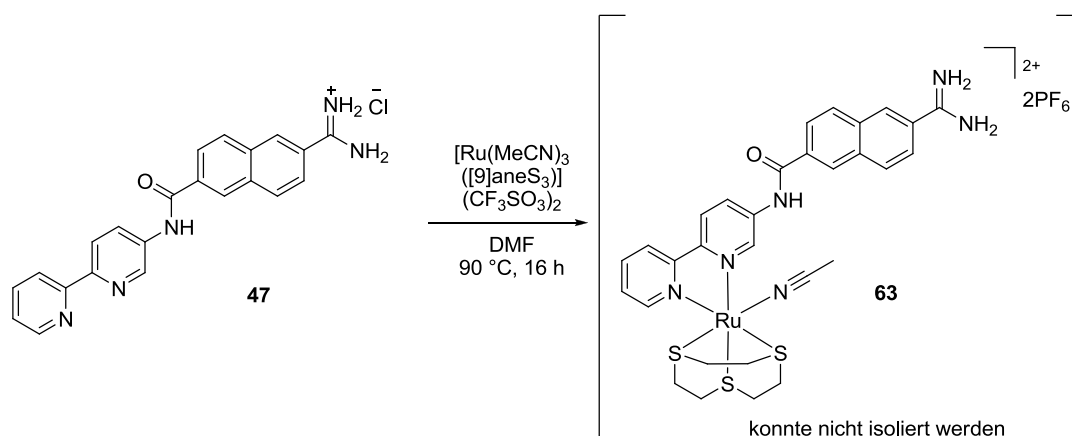
Das ^1H -NMR Spektrum der Verbindung **62** zeigte neben der Benzol-Resonanz weitere Signale (Abbildung 28, 6.03 ppm). Dies ließ auf die geringe Stabilität des Komplexes schließen, denn der Benzol-Ligand ist für seine Photolabilität bekannt.^[102] Die Photolabilität kann ausgenutzt und der Halbsandwich-Komplex **62** photochemisch zu einem Trisacetonitrilkomplex umgesetzt werden, der mit seinen semi-labilen Liganden einen idealen Vorläufer für einfache Ligandenaustauschreaktionen und kombinatorische Chemie darstellt.^[102]



Synthese eines oktaedrischen 1,4,7-Trithiacyclononankomplexes

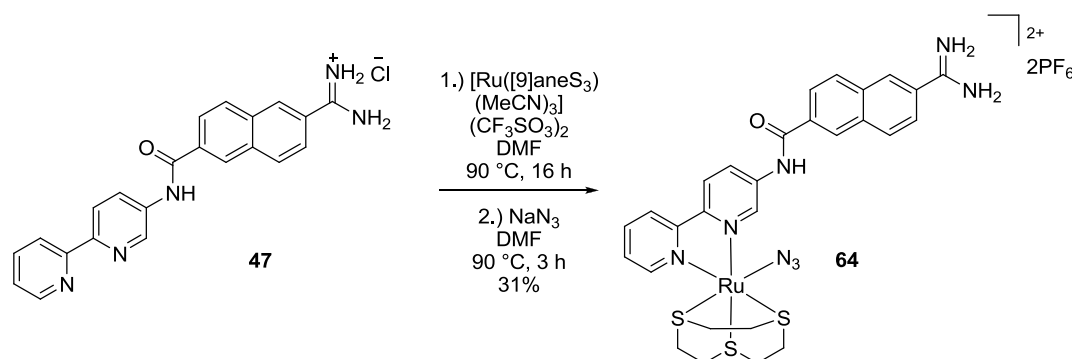
Um den Einfluss einer oktaedrischen Ligandensphäre auf die Enzymaffinität zu ermitteln wurde eine Bibliothek an oktaedrisch koordinierten Metallkomplexen synthetisiert. Oktaedrische Komplexe

zeigten sich schon in verschiedenen Studien zu Proteinkinase-Inhibitoren als hochpotente und selektive Verbindungen. Besonders gut eignete sich bei den Proteinkinasen der 1,4,7-Trithiacyclononan-Ligand^[103] speziell in der Ausfüllung hydrophober Bindungstaschen.^[104] Der $[\text{Ru}([\text{9}] \text{aneS}_3)(\text{MeCN})_3](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ Vorläufer^[105] wird gewöhnlich in DMF mit dem Ligand bei 90 °C umgesetzt und kann häufig als Monoacetonitrilkomplex isoliert werden.^[32] Der semilabile einzählige Ligand kann sehr einfach gegen andere Liganden ausgetauscht werden. Dadurch eignet sich dieser Komplex ebenfalls als Vorläufer zur Herstellung einer Bibliothek an Verbindungen. Im Falle des Liganden **47** war eine Isolation des Monoacetonitrilkomplexes **63** über säulenchromatographische Reinigung nicht möglich (Schema 11).



Schema 11: Versuchte Darstellung des Monoacetonitrilkomplexes **63** durch Reaktion des Liganden mit dem $[\text{Ru}([\text{9}] \text{aneS}_3)(\text{MeCN})_3](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ Vorläufer in DMF bei 90 °C.

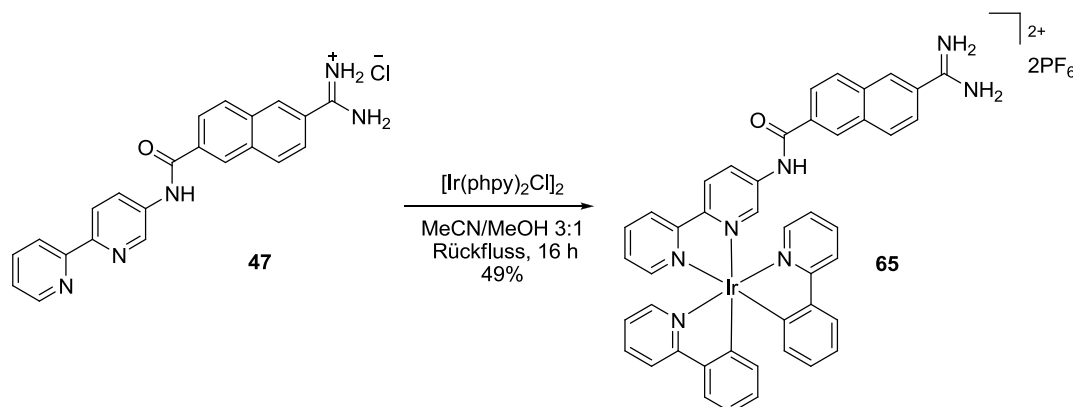
Der Monoacetonitrilkomplex wurde daher *in situ* mit Natriumazid als anionischen einzähligen Liganden umgesetzt.^[30] In vorangegangenen Studien zeigte sich anhand des Cyclopentadienylkomplexes **48**, dass Trypsin sowohl hydrophobe als auch hydrophile Liganden am Metallzentrum bevorzugt. Somit erschien der Azidokomplex als geeignetes Analoga um die optimale Größe des hydrophoben Liganden zu evaluieren. Der Azidokomplex wurde in 31% Ausbeute erhalten. (Schema 12).



Schema 12: Synthese eines Trithiacyclononankomplexes durch *in situ* Umsetzung des intermediär gebildeten Monoacetonitrilkomplexes mit dem anionischen einzähligen Azido-Liganden.

Synthese oktaedrische Phenylpyridinkomplexe

Zur Untersuchung des Ladungseinflusses der Inhibitoren wurde ein dem Ruthenium-Bipyridinkomplex ähnlicher Iridium-Phenylpyridinkomplex synthetisiert. Im Gegensatz zum dreifach kationischen Bipyridinkomplex besitzt der Phenylpyridinkomplex eine zweifach kationische Ladung. Der Iridiumkomplex **65** wurde in 49% Ausbeute dargestellt, indem der Ligand mit dem literaturbekannten Vorläufer $[\text{Ir}(\text{phpy})_2\text{Cl}]_2^{[107,108]}$ in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol mit dem Liganden reagierte (Schema 13).



Schema 13: Synthese des Iridiumkomplexes **65** in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol in 49% Ausbeute.

Das Produkt wurde als racemisches Gemisch erhalten. In biologischer Umgebung besitzen Enantiomere unterschiedliche Wirkmechanismen, daher sollte der Komplex **65** zusätzlich enantiomerenrein hergestellt werden. Die Enantiomere sollten zur Untersuchung einer möglichen chiralen Erkennung im aktiven Zentrum der Serinprotease eingesetzt werden.

Im Gegensatz zu rein organischen Molekülen gibt es bis jetzt jedoch nur wenige Methoden enantioselektiv Metallkomplexe herzustellen. Im Arbeitskreis MEGGERS wurden bereits einige Synthesemethoden zur asymmetrischen Synthese von Ruthenium-Bipyridinkomplexen etabliert.^[109-116] MELANIE HELMS gelang es, eine dieser Methoden auf die enantioselektive Synthese von Phenylpyridin-Iridiumkomplexen **66** zu übertragen (Abbildung 35).^[117]

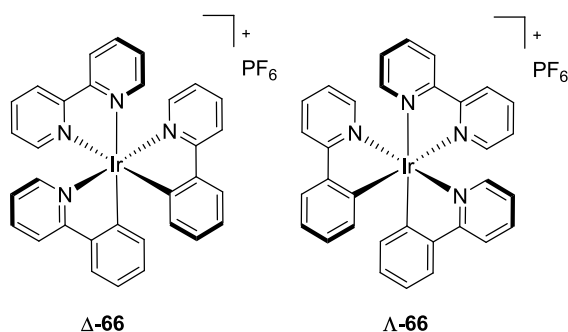
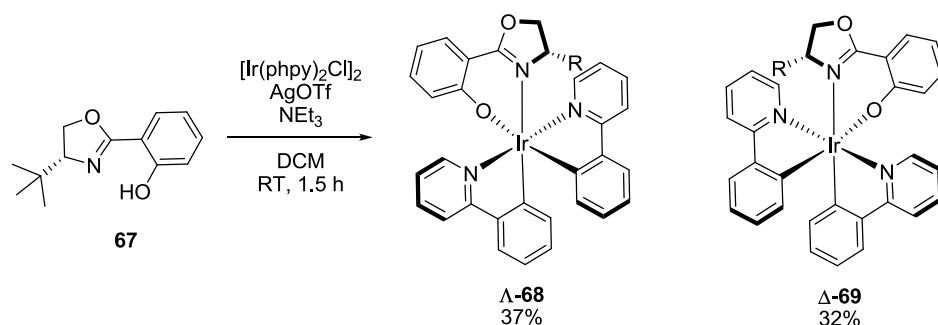


Abbildung 29: Struktur der enantiomerenreinen Iridium-Phenylpyridinkomplexe Δ -**66** und Λ -**66**.

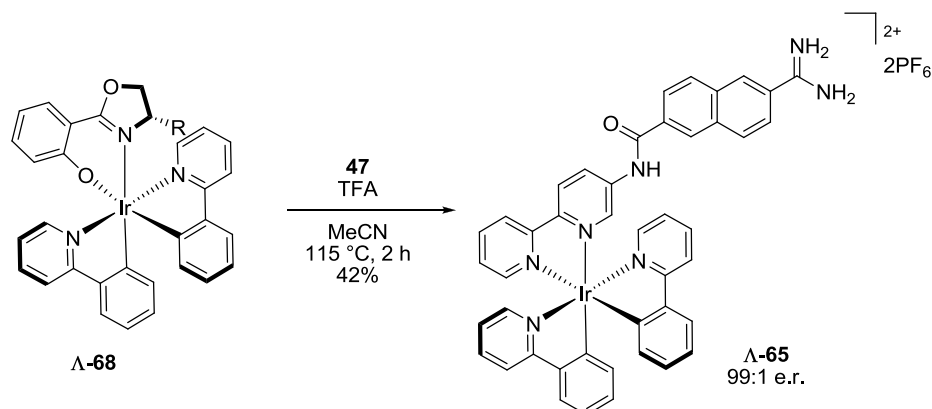
Als chirales Auxiliar diente (S)-5-*tert*-Butyl-2-(2'-hydroxyphenyl)oxazolin **67**, welches mit racemischen $[\text{Ir}(\text{phpy})_2\text{Cl}]_2$ -Vorläufer, Silbertrifluormethansulfonat, sowie Triethylamin umgesetzt wurde. Es wurden zwei diastereomere Komplexe Λ -(S)-**68** und Δ -(S)-**69** erhalten, die als Vorläufer für die Synthese der enantiomerenreinen Komplexe Δ -**65** und Λ -**65** verwendet wurden (Schema 14). Die Diastereomere wurden säulenchromatographisch über eine Kieselgelsäule getrennt und MELANIE HELMS gelang die Aufklärung der absoluten Stereochemie der erhaltenen Fraktionen durch Analyse der Kristallstrukturen.^[117]



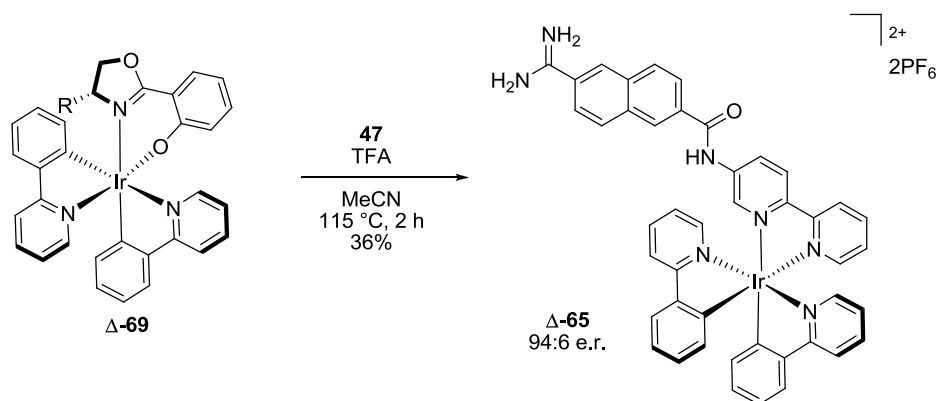
Schema 14: Synthese der diastereomeren Iridiumkomplexe Λ -**68** und Δ -**69**.

Das chirale Auxiliar wurde jeweils unter Zugabe von Trifluoressigsäure abgespalten und mit dem Liganden in Acetonitril bei 115 °C umgesetzt. Über die Stereochemie am Vorläuferkomplex^[117] unterstützt durch den Vergleich der CD-Spektren (Abbildung 31, Abbildung 32) konnte auf die Stereochemie der enantiomerenreinen Komplexe geschlossen werden.

Diese wurden so in 41% (Λ -**65**) und 33% (Δ -**65**) Ausbeute erhalten (Schema 15, Schema 16). Die Reinheit der Enantiomere wurde über HPLC mit einer chiralen Säule bestimmt. Das Λ -Enantiomer wurde mit einem e.r. von 99:1 erhalten, das Δ -Enantiomer mit einem e.r. von 94:6. Die Unterschiede lagen in der höheren Stabilität des Λ -Diastereomers begründet. Das Δ -Diastereomer war etwas weniger stabil und zersetzte sich bei den hier verwendeten hohen Temperaturen, so dass Racemisierung einsetzte.



Schema 15: Synthese der enantiomerenreinen Verbindung Λ -**65** unter Verwendung des diastereomeren Vorläufer-Komplexes Λ -**68**. Das Verhältnis der beiden Enantiomere wurde über chirale HPLC bestimmt.



Schema 16: Synthese der enantiomerenreinen Verbindung Δ -65 unter Verwendung des diastereomeren Vorläufer-Komplexes Δ -69. Das Verhältnis der beiden Enantiomere wurde über chirale HPLC bestimmt.

Von beiden Verbindungen wurde ein CD-Spektrum aufgenommen (Abbildung 30). Es ist zu erkennen, dass beide Enantiomere erfolgreich synthetisiert wurden und dass das instabilere Δ -Enantiomer mit einem geringeren e.r. erhalten wurde.

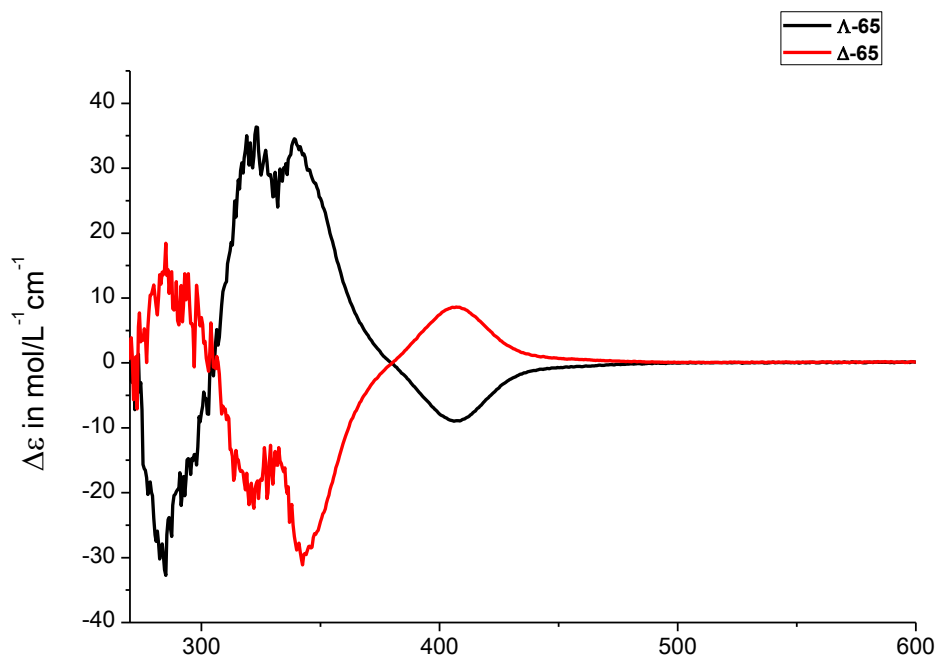


Abbildung 30: Vergleich der CD-Spektren von Δ -65 und Δ -65.

Ein Vergleich der CD-Spektren mit Daten von MELANIE HELMS verdeutlicht, dass die Verbindungen mit der erwarteten Stereochemie am Metallzentrum erhalten wurden.^[117] Abbildung 31 zeigt den Vergleich des Δ -Enantiomers **65** mit dem entsprechenden Δ -Vorläuferkomplex **68** und dem Bipyridinkomplex Δ -**66**. Das lokale Minimum bei einer Wellenlänge von 280 nm ist bei allen drei Verbindungen zu finden, des Weiteren ist der Verlauf des Spektrums der Verbindungen Δ -**66** und Δ -**65** im Bereich von 600 nm bis 320 nm sehr ähnlich.

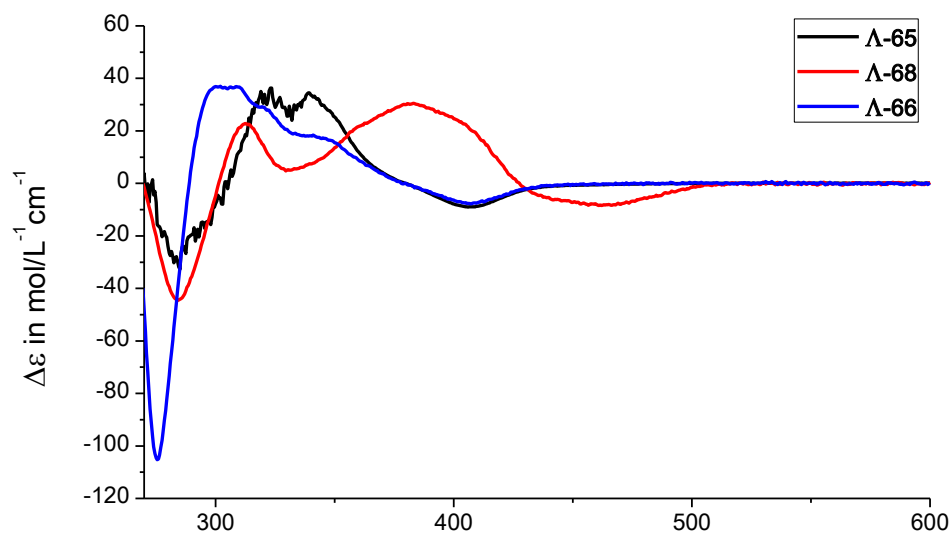


Abbildung 31: Vergleich der CD-Spektren von Δ -65, Δ -66 und Δ -68.

Abbildung 32 zeigt den Vergleich des Δ -Enantiomers **65** mit dem entsprechenden Δ -Vorläuferkomplex **69** und dem Bipyridinkomplex Δ -**66**. Das lokale Maximum bei einer Wellenlänge von 280 nm ist bei allen drei Verbindungen zu finden, des Weiteren ist der Verlauf des Spektrums der Verbindungen Δ -**65** und Δ -**66** im Bereich von 600 nm bis 320 nm sehr ähnlich.

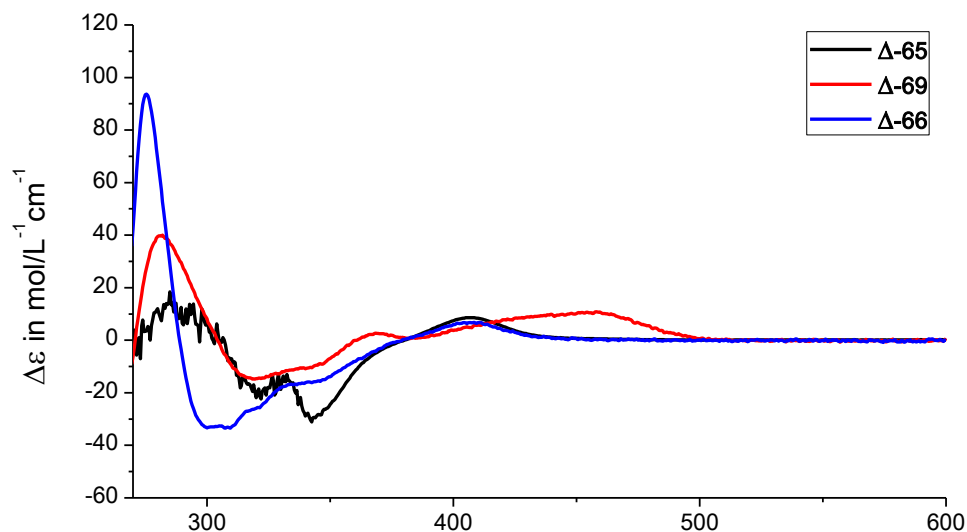


Abbildung 32: Vergleich der CD-Spektren von Δ -65, Δ -66 und Δ -69.

47

48

49

62

64

65

Δ -65

Δ -65

Abbildung 33: Übersicht der mit dem Bipyridinliganden getesteten Verbindungen.

36

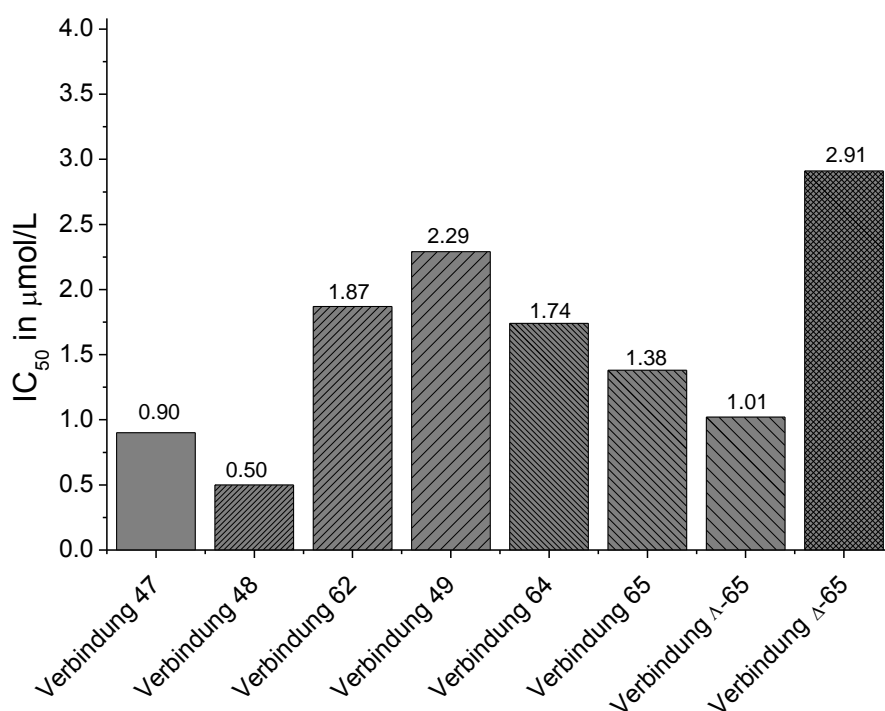


Abbildung 34: Übersicht der Messergebnisse der Verbindungen. Zum Vergleich sind die aus vorangegangenen Studien erhaltenen Ergebnisse ebenfalls dargestellt.^[98]

Das racemische Gemisch des Ruthenium-Bipyridinkomplexes **49** inhibiert Trypsin mit einem IC₅₀ von 2.29 µmol/L und der mit dem Ruthenium-Bipyridinkomplex verwandte Iridiumkomplex **65** mit 1.38 µmol/L. Der einfach kationische, hydrophobere Iridiumkomplex ist also etwas affiner als der zweifach kationische Rutheniumkomplex. Vermutlich liegt das an geringeren Hydrophilie der einfach kationischen Verbindung. Der Iridiumkomplex wurde enantiomerenrein hergestellt, wobei die einzelnen Enantiomere nur einen geringen Unterschied in der Affinität zeigen. Komplex Δ-**65** ist etwas weniger potent mit einem IC₅₀-Wert von 2.91 µmol/L als das Δ-Enantiomer von **65** mit 1.02 µmol/L. Der Azido-Komplex **64** zeigt einen IC₅₀ von 1.74 µmol/L und ist so etwas potenter als die Komplexe mit ausschließlich hydrophoben Liganden.

Der Bindungsmodus des Naphthamidin-Bausteins ist aus Arbeiten von WENDT *et al.* für Urokinase bekannt.^[86] Durch die nahe Verwandtschaft der Urokinase mit Trypsin lässt sich ein plausibles Bindungsmodell für Trypsin ableiten. Die Amidgruppe bindet über eine Salzbrücke an Asp189 in der S1-Tasche und der Stickstoff der Amidbindung kann ebenfalls eine wasservermittelte Wasserstoffbrücke zum Ser214 ausbilden. Eine direkte Wechselwirkung mit Ser214 ist sehr unwahrscheinlich, da der Abstand zwischen dem Amidstickstoff und dem Serinsauerstoff mit 5.12 Å für Wasserstoffbrückenbindungen sehr groß ist. Der Carbonylsauerstoff der Amidbindung dagegen ist in der Lage eine Wasserstoffbrücke zum Gln192 auszubilden. Bei genauerer Betrachtung der beiden Halbsandwichkomplexe fällt auf, dass beide grundsätzlich einen ähnlichen sterischen Anspruch

besitzen sollten, sowie eine ähnliche Positionierung des hydrophoben Liganden. Allerdings weist der Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplex **48** eine Besonderheit auf: Hier koordiniert der einzählige CO-Ligand an das Rutheniumzentrum. Dieser Ligand ist im Gegensatz zum Chloridoliganden des Halbsandwichkomplexes **62** wesentlich polarer und könnte Wasser aus dem aktiven Zentrum verdrängen, oder polare Kontakte ausbilden (Abbildung 35).

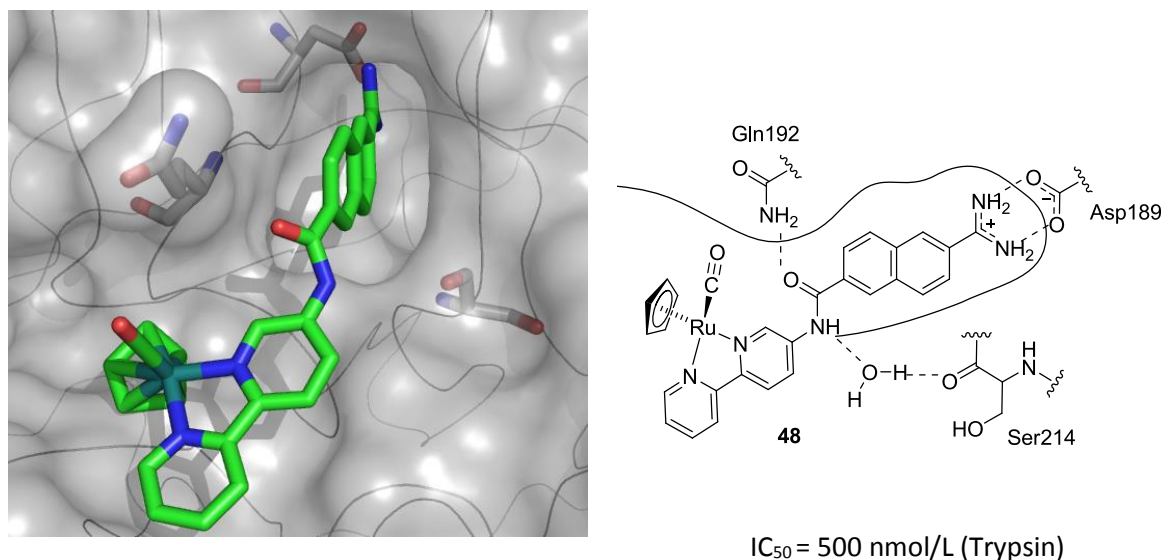


Abbildung 35: Erwarteter Bindungsmodus des aktiveren Enantiomers von Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplex **60**. Die Abbildung wurde mit CAChe basierend auf 1Y3U erstellt.

Ohne Kokristallstruktur könnte der Bindungsmodus durch Enantiomerentrennung der Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplexe verifiziert werden. Wie in Abbildung 35 gezeigt ist, sollte eines der beiden Enantiomere eine höhere Affinität besitzen, nämlich wenn der Cyclopentadienylligand in Richtung Enzymoberfläche und der CO-Ligand in Richtung Gln192 zeigt. Allerdings schlug die Enantiomerentrennung per chiraler HPLC fehl.

Ein ähnlicher Bindungsmodus wird auch bei dem oktaedrischen Trithiacyclononankomplexe erwartet. Der hydrophobe 1,4,7-Trithiacyclononanligand sollte sich bevorzugt in Richtung Enzymoberfläche orientieren und der einzählige Azido-Ligand könnte Wasser verdrängen oder polare Wechselwirkungen ausbilden.

Die Liganden des Ruthenium-Bipyridinkomplexes **49**, sowie des Iridiumphenylpyridinkomplexes **65** binden vermutlich ausschließlich über hydrophobe Kontakte an die Enzymoberfläche. Durch ihre globuläre Struktur sind die Verbindungen in der Lage wesentlich mehr Wasser aus der aktiven Tasche zu verdrängen als alle anderen synthetisierten Komplexe.

Die Ladung der Metallkomplexe scheint anhand der Ergebnisse aus Abbildung 33 eine untergeordnete Rolle zu spielen. Grundsätzlich werden Komplexe mit steigender Ladung stärker solvatisiert, werden schwerer aus der Lösungsumgebung entfernt und binden somit schwächer. Dagegen kann das Oberflächenpotential des Enzyms einen starken Beitrag zur Bindungsaffinität leisten.^[79] So sollten kationische Moleküle bevorzugt an Enzyme mit einem anionischen

Oberflächenpotential binden. Der dreifach kationische Ruthenium-Bipyridinkomplex zeigt eine etwas schlechtere Affinität als der zweifach kationische Iridium-Phenylpyridinkomplex. Der Iridium-Phenylpyridinkomplex weist eine hydrophobere Oberfläche auf, so dass davon ausgegangen werden kann, dass es sich um hydrophobe Wechselwirkungen handelt, die den Affinitätsunterschied verursachen. Des Weiteren besitzt Trypsin an der Position, an der sich das Metallzentrum des Inhibitors befindet kaum aromatische Aminosäuren. Gerade aromatische Aminosäuren sind durch das polarisierbare π -Elektronensystem in der Lage Kation- π -Wechselwirkungen auszubilden.

Die gezielte Synthese der beiden Enantiomere des Iridiumkomplexes erhöhte die Affinität im Vergleich zum racemischen Gemisch nicht signifikant. Zwar hatte das Δ -Enantiomer mit 1.02 $\mu\text{mol/L}$ eine höhere Affinität als das Λ -Enantiomer mit 2.91 $\mu\text{mol/L}$, aber eine deutliche Bevorzugung ist nicht zu erkennen. Das Metallzentrum ist vermutlich zu weit außerhalb des aktiven Zentrums positioniert. Dort befindet sich bei Trypsin nur eine geringfügig strukturierte Oberfläche, so dass beide Enantiomere kaum sterische Abstoßung durch die Enzymoberfläche erfahren.

Generell zeigten die Komplexe des Bipyridin-Ligandensystems bei Variation der Ligandensphäre alle eine ähnliche Affinität. Kleine Unterschiede wurden durch Adressierung des Gln192 Rests erreicht, diese wurden jedoch von hydrophoben Wechselwirkungen überlagert, die eine wesentlich größere Rolle zu spielen scheinen.

Fazit

Neben den in vorangegangenen Arbeiten bereits synthetisierten Komplexen wurde die Bibliothek um oktaedrische Ruthenium- und Iridiumkomplexe erweitert. Dabei zeigte sich stets eine ähnliche Affinität gegenüber Trypsin. Eine Einschränkung der Rotationsfreiheitsgrade des Inhibitors sollte so zu einer größeren Diskriminierung zwischen den verschiedenen Komplexen führen und die Entwicklung selektiver Inhibitoren ermöglichen.

3.2 Entwicklung eines Serinprotease-Inhibitors auf Basis des Dipyrido[3,2-a:2',3'-c]phenazin Grundgerüsts

3.2.1. Ligandendesign und Synthese

Ein weiteres Ligandensystem sollte analog zum Bipyridinliganden das Metall außerhalb der aktiven Tasche positionieren. Neben der Amidgruppe sollte die Fähigkeit des Ser195 der katalytischen Triade zum Ausbilden von Wasserstoffbrücken ausgenutzt werden. Zusätzlich sollte der Ligand eine möglichst große hydrophobe Oberfläche bieten, um hydrophobe Effekte genauer untersuchen zu können. Für diese Zwecke erschien das Dipyrido[3,2-a:2',3'-c]phenazin-Grundgerüst **70** (DPPZ, Abbildung 36)^[118] als ideale Leitstruktur. In verschiedenen biologischen Anwendungsgebieten wurden Komplexe mit diesem Liganden bereits verwendet. Studien mit DPPZ-Komplexen als DNA-Interkalatoren und molekulare Lichtschalter^[118] zeigten die Fähigkeit Wasserstoffbrücken auszubilden und die Affinität zu hydrophoben Biomolekülen. Der Ligand bietet eine große Oberfläche und kann so das aktive Zentrum der Proteasen ausfüllen. Durch die Länge des Liganden sollte sichergestellt werden, dass es nicht zur Abstoßung mit dem 192-Rest kommt, der in Richtung der S1-Tasche ragt und die Phenazin-Stickstoffe sollten in der Lage sein Wasserstoffbrücken mit Ser195 auszubilden.^[118]

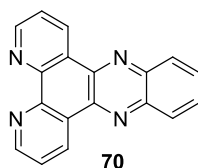
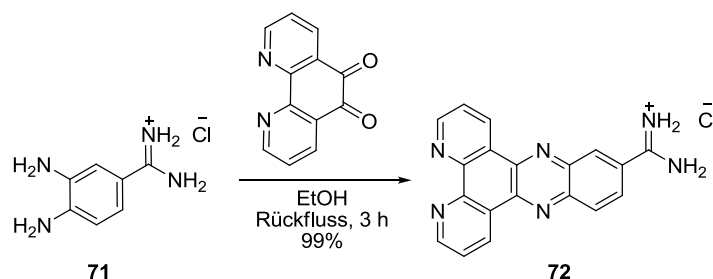


Abbildung 36: Struktur des Dipyrido[3,2-a:2',3'-c]phenazin-Grundgerüsts **70**.

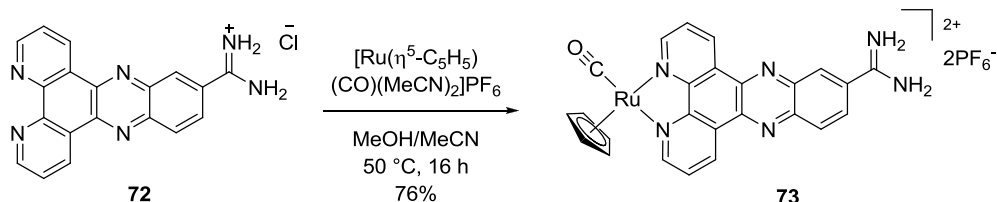
Als Startpunkt der Synthese diente 3,4-Diaminobenzamidin-Hydrochlorid **71**, das von LEI GONG nach einer literaturbekannten Vorschrift synthetisiert wurde.^[119] Der Ligand **72** wurde in einer einstufigen Synthese durch eine Kondensationsreaktion von 3,4-Diaminobenzamidin-Hydrochlorid **71** mit 1,10-Phenanthrolin-5,6-dion in Ethanol in quantitativer Ausbeute erhalten (Schema 17).



Schema 17: Synthese des Dipyrido[3,2-a:2',3'-c]phenazin-11-amidin-Liganden **72** ausgehend von 3,4-Diaminobenzamidin-Hydrochlorid **71**.

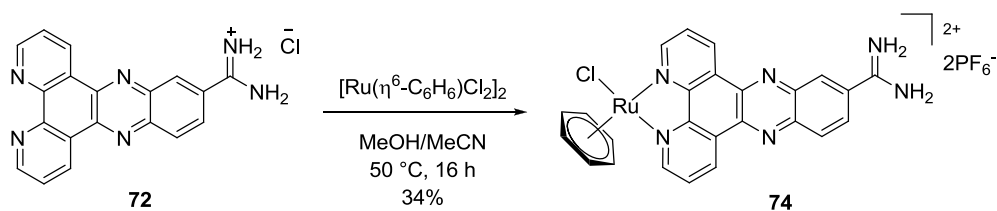
3.2.2 Darstellung von Metallkomplexen

Mit dem Liganden wurden globuläre Komplexe mit oktaedrischer Koordinationsgeometrie sowie pseudo-oktaedrische Halbsandwichkomplexe synthetisiert. Der erste Halbsandwichkomplex (**73**) wurde durch Umsetzung des Liganden **72** mit $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6^{[125]}$ in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol (1:1) in 76% Ausbeute erhalten (Schema 18).



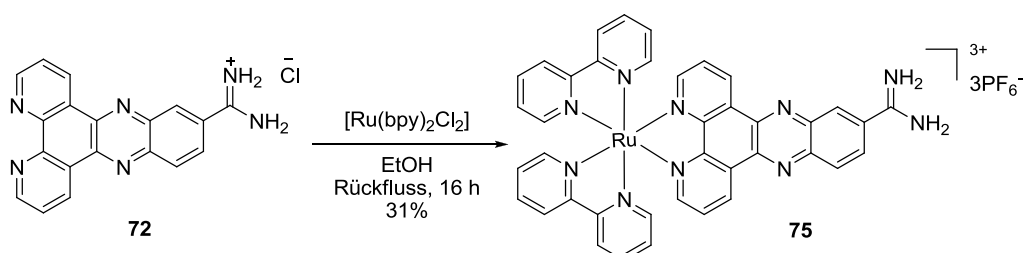
Schema 18: Synthese des Halbsandwichkomplexes **73** in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol mit 76% Ausbeute.

Des Weiteren wurde ein Halbsandwichkomplex mit dem photolabilen Benzolliganden hergestellt. Dazu wurde der Ligand **72** in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol (1:1) mit dem $[\text{Ru}(\eta^6\text{-C}_6\text{H}_6)\text{Cl}_2]_2$ -Vorläufer umgesetzt. Der Halbsandwichkomplex **74** wurde in 34% Ausbeute erhalten (Schema 19).



Schema 19: Synthese des Halbsandwichkomplexes **74** in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol mit 34% Ausbeute.

Der Bipyridinkomplex **75** wurde durch Reaktion des Liganden **72** mit $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{Cl}_2]$ in Ethanol hergestellt. Dabei wurde Verbindung **75** in einer Ausbeute von 31% isoliert (Schema 20).



Schema 20: Synthese des Bipyridinkomplexes **75** in Ethanol mit 31% Ausbeute.

3.2.3 Untersuchung der biologischen Aktivität

Der Ligand **72** und die Komplexe **73** - **75** wurden gegen die Serinproteasen Trypsin, Thrombin und Urokinase getestet (Abbildung 37). Der Bipyridinkomplex **75** inhibiert keine der Serinproteasen im getesteten Bereich bis 100 $\mu\text{mol/L}$. Der Ligand **72** inhibiert Thrombin und Urokinase mit einem IC_{50} -Wert von 80 $\mu\text{mol/L}$, bzw. 70 $\mu\text{mol/L}$. Der IC_{50} -Wert von Trypsin liegt außerhalb des getesteten Konzentrationsbereichs ($>100 \mu\text{mol/L}$). Bei Betrachtung der Halbsandwichkomplexe fällt auf, dass beide Komplexe Thrombin stärker inhibieren als der Ligand. Der Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplex **73** besitzt einen IC_{50} für Thrombin von 21.4 $\mu\text{mol/L}$ und der Benzol-Halbsandwichkomplex **74** einen IC_{50} von 50.5 $\mu\text{mol/L}$. Trypsin und Urokinase werden von beiden pseudo-oktaedrischen Komplexen im dreistellig mikromolaren Bereich gehemmt.

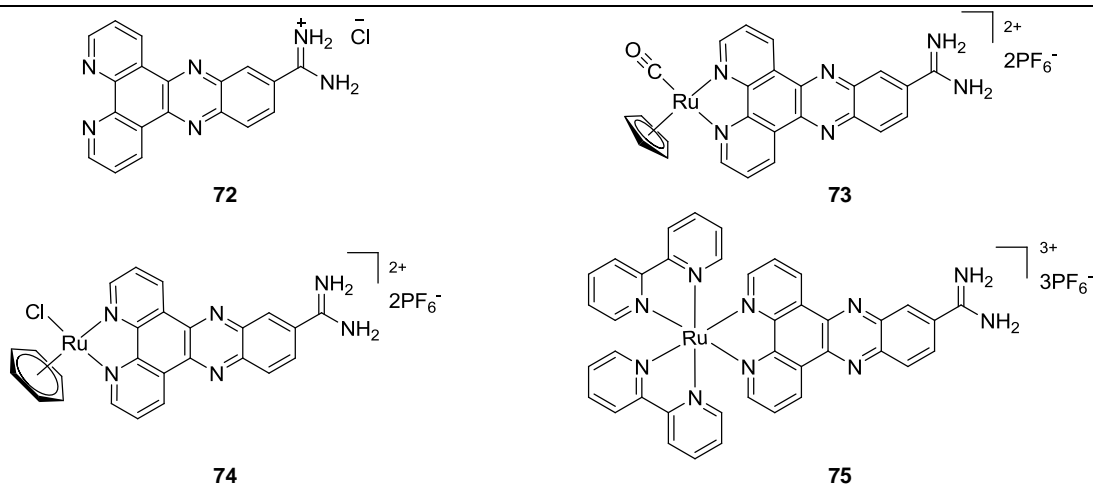
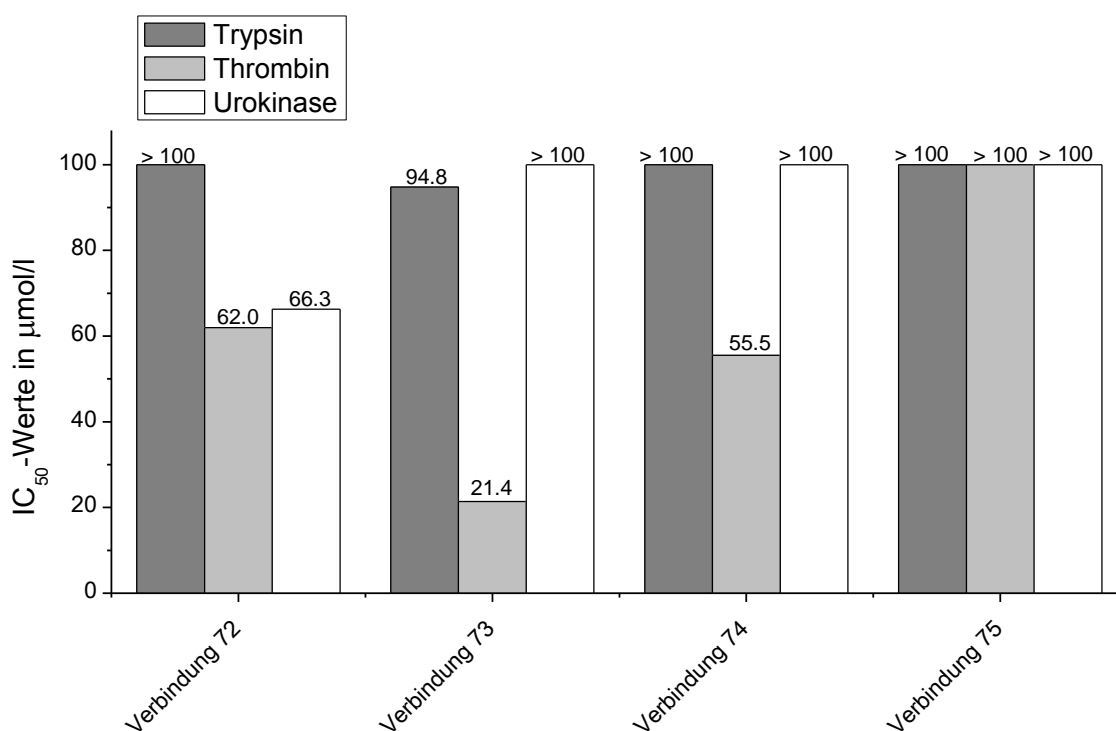


Abbildung 37: Übersicht der gemessenen IC_{50} -Werte der synthetisierten Verbindungen gegenüber Trypsin, Thrombin und Urokinase.

Der Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplex **73** zeigt eine Trypsin-/Thrombin-Selektivität von 4.4 und eine Urokinase Selektivität von >5. Der Komplex ist relativ weit vom aktiven Zentrum entfernt, so dass die sterische Abstoßung mit dem 192-Rest umgangen wird. Allerdings sind auch keine gerichteten Wechselwirkungen zwischen der Enzymoberfläche und den koordinierten Liganden zu erwarten, wahrscheinlich ragen die Liganden in die Lösungsumgebung. Thrombin könnte als einziges Enzym mit den Liganden in Wechselwirkung treten, da sich die charakteristische Thrombinschleife in der Region des Metallzentrums befindet. Ein hydrophober Rest, wie der Cyclopentadienylligand könnte mit dem Trp-60D der Thrombinschleife hydrophobe Kontakte oder π - π -Wechselwirkungen ausbilden. Damit würde sich folgender Bindungsmodus für den Halbsandwichkomplex **73** ergeben (Abbildung 38).

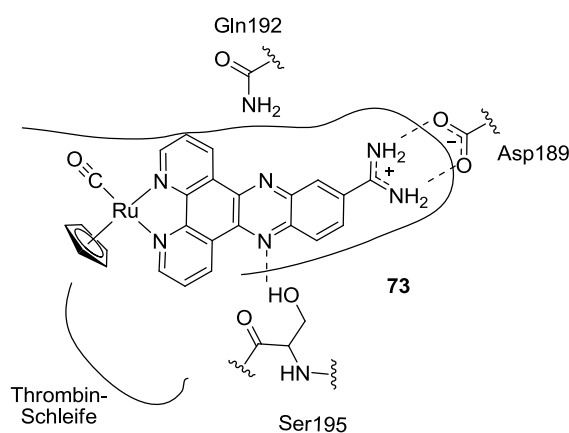


Abbildung 38: Erwarteter Bindungsmodus des Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplexes in der aktiven Tasche von Thrombin.

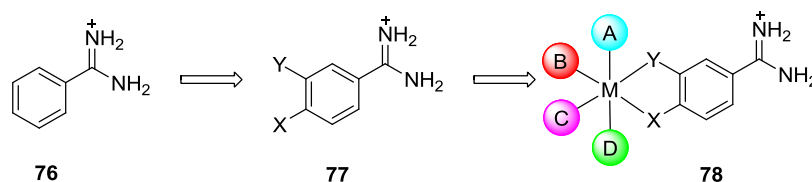
Fazit

Mit einer kurzen Ligandensynthese und bekannter Koordinationschemie des Liganden konnte eine Bibliothek an potentiellen Serinprotease-Inhibitoren hergestellt werden. In Anbetracht der Ergebnisse der DPPZ- und Bipyridin-Inhibitoren lässt sich bei beiden Liganden **47** und **72** der Schluss ziehen, dass das Metallzentrum zu weit außerhalb des aktiven Zentrums positioniert ist. Die Komplexe **73**, **74** und **74** konnten kaum Affinität generieren. Die Liganden sind vermutlich von der Enzymoberfläche weg in die Lösungsumgebung ausgerichtet. Bei beiden Systemen konnte ein *Hot Spot* durch die Positionierung des Metallzentrums samt Liganden nicht adressiert werden. Die Ergebnisse legen nahe, dass ein näher an die S1-Tasche positioniertes Metall zu einer höheren Affinität und auch zu höherer Selektivität führen sollte.

3.3 Methylthioetherbenzamidine als Serinprotease-Inhibitoren

3.3.1 Ligandendesign

Die Benzamidingruppe als Lysin- und Argininmimetikum stellte das kleinste wiederkehrende Strukturmotiv bei Serinprotease-Inhibitoren dar (**76**).^[79,87,93] Das Amidin bildet eine Salzbrücke zum in der S1-Tasche lokalisierten Asp189 und der hydrophobe Benzolring füllt diese Tasche vollständig aus. Dieses Strukturmotiv sollte auch bei den Serinprotease-Inhibitoren der nächsten Generation verwendet werden. Durch Einführung chelatisierender funktioneller Gruppen X und Y am Benzolring in *para*-, bzw. *meta*-Stellung zum Amidin könnten kleinstmögliche Liganden **77** erhalten werden, die weiter zu Metallkomplexen (**78**) umgesetzt werden (Schema 21). Diese Komplexe hätten den Vorteil, dass es sich dabei um starre Systeme handelt, die keine Rotation um Bindungen zulassen. Somit wären entropische Verluste, die häufig einen sehr großen Beitrag zur Bindungsaffinität besitzen^[8] bei der Orientierung in der Bindungstasche zu vernachlässigen.



Schema 21: Geplantes Vorgehen bei der Entwicklung weiterer Serinprotease-Inhibitoren basierend auf dem Benzamidin-Strukturmotiv. A, B, C und symbolisieren verschiedene Liganden in einem oktaedrischen Metallkomplex.

Als koordinierende Gruppe-Y wurde ein Methylthioether gewählt. Dieser sollte die hydrophobe S1 β -Tasche in der Nähe des aktiven Zentrums ausfüllen. Als Gruppe-X sollte ein hydrophober Thioether, eine Aminogruppe und eine Hydroxylgruppe eingeführt werden (**79**, **80**, **81**, Abbildung 39).

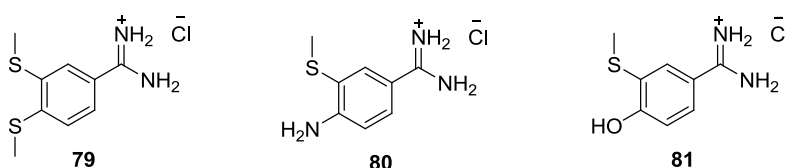
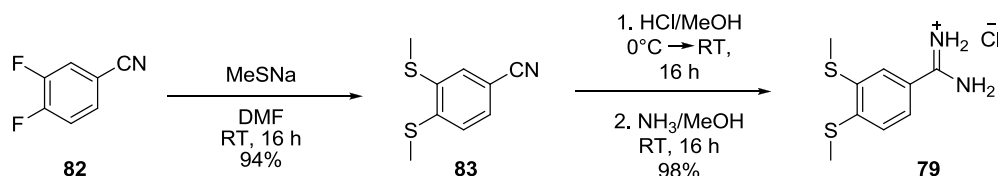


Abbildung 39: Design der verschiedenen Benzamidinliganden **79**, **80** und **81**.

Mit der Wahl verschiedener Reste-X sollte in einer Struktur-Wirkbeziehungs-Untersuchung der Einfluss einer hydrophoben Gruppe, eines Wasserstoffbrückenakzeptors und eines Wasserstoffbrückendonors bestimmt werden. Zu erwarten wäre, dass der Amino-Ligand die höchste Bindungsaffinität zeigt, da die Aminogruppe in der Lage sein sollte Wasserstoffbrücken zum Ser195 und zum Ser214 auszubilden.

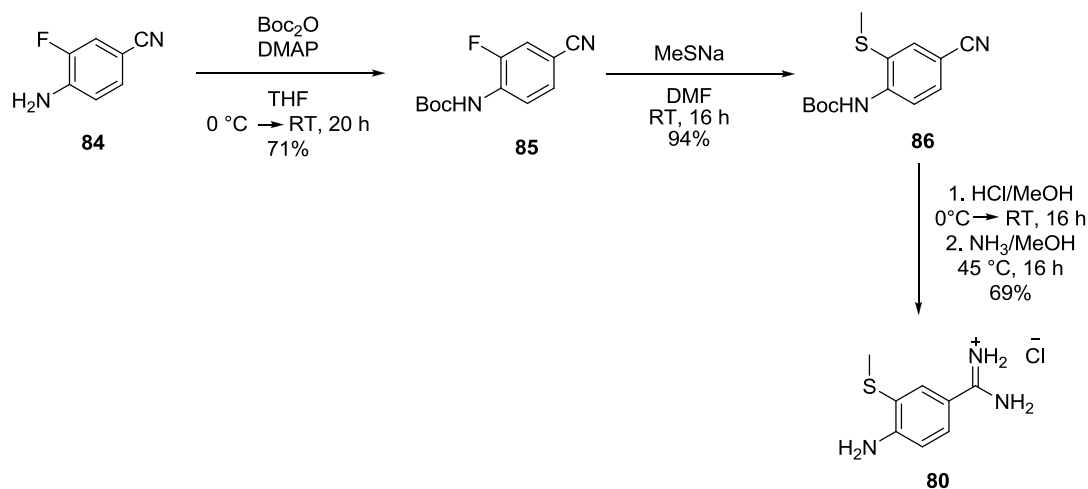
3.3.1 Synthese der Liganden

Der Bismethylthioetherligand **79** wurde ausgehend von 3,4-Difluorbenzonitril **82** synthetisiert. Zunächst wurde 3,4-Difluorbenzonitril in DMF mit Natriummethylthiolat zu 3,4-Bis(methylthio)benzonitril **83** analog zu einer literaturbekannten Vorschrift umgesetzt.^[120] Die Nitrilfunktion wurde durch die PINNER-Reaktion unter Standardbedingungen in das Amidin **79** überführt (Schema 22).^[121]



Schema 22: Synthese des Liganden **79** ausgehend von 3,4-Difluorbenzonitril **82** in einer zweistufigen Reaktionssequenz.

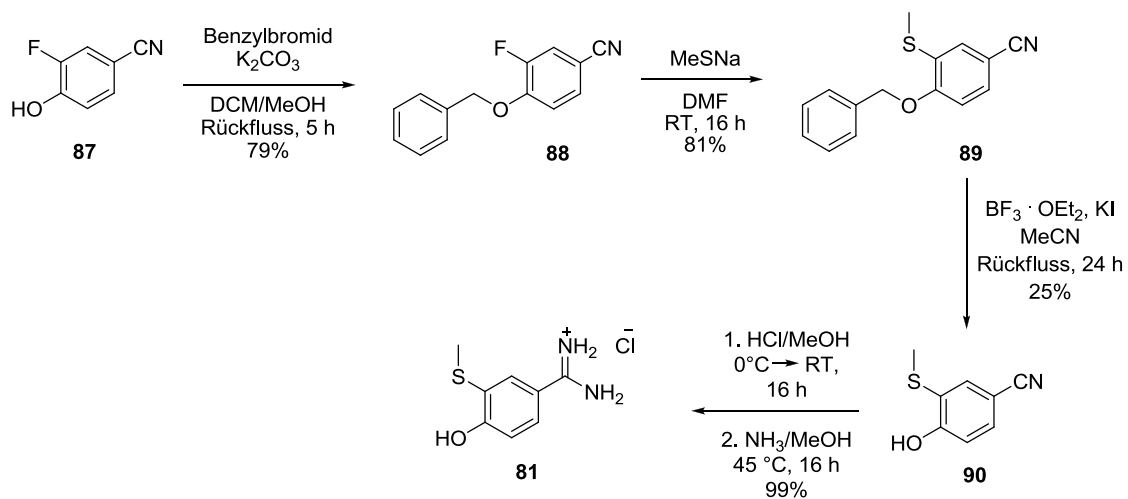
Die Herstellung des Aminoliganden **80** erfolgte im ersten Schritt durch Schützung der Aminofunktion von 3-Amino-4-fluorbenzonitril **84** mit Di-*tert*-butyl-dicarbonat in Tetrahydrofuran in 71% Ausbeute. Als nukleophiler Katalysator diente dabei 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin.^[122] Das geschützte Benzonitril (**85**) wurde darauf mit Natriummethylthiolat in DMF zum Thioether **86** umgesetzt und in 94% Ausbeute erhalten. Ligand **80** wurde nach Durchführung der PINNER-Reaktion unter Standardbedingungen in 69% Ausbeute isoliert. Bei der Einleitung von HCl-Gas wurde die Schutzgruppe entfernt, so dass kein weiterer Entschützungsschritt notwendig war (Schema 23).



Schema 23: Synthese des Liganden **80** ausgehend von 3-Amino-4-fluorbenzonitril **84** in einer dreistufigen Reaktionssequenz.

Die Synthese des Hydroxymethylthioether-Liganden **81** erfolgte analog des Liganden **80**, hier aber ausgehend von 3-Fluor-4-hydroxybenzonitril **87** (Schema 24). Die Hydroxylgruppe wurde im ersten Schritt mit Benzylbromid in 79% Ausbeute analog einer literaturbekannten Vorschrift geschützt.^[123] Verbindung **88** reagierte anschließend mit Natriummethylthiolat zum Thioether **89** in 81% Ausbeute.

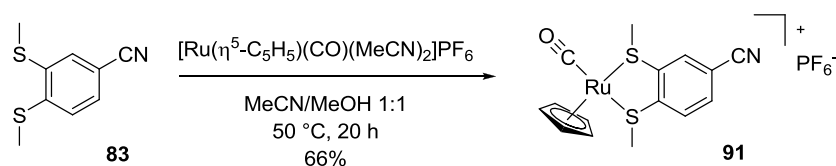
Da eine Entschützung mit Wasserstoff wahrscheinlich zu einer Reduktion des Nitrils zum Aminomethylpyridin führen würde, wurde die Benzylgruppe mit Trifluorboran-Etherat in 25% Ausbeute entfernt (**90**).^[124] Die PINNER-Reaktion zum finalen Liganden **81** erfolgte in quantitativer Ausbeute (Schema 24).



Schema 24: Synthese des Liganden **81** ausgehend von 3-Fluor-4-hydroxybenzonitril **87** in einer vierstufigen Reaktionssequenz.

3.3.3 Synthese pseudooktaedrischer Halbsandwichkomplexe

Da sich das Metall nun wesentlich näher am aktiven Zentrum befindet, konnten keine sterisch anspruchsvollen Liganden verwendet werden. Daher wurden die Liganden jeweils mit $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6$ ^[125] zu relativ kleinen Halbsandwichkomplexen umgesetzt (Schema 26). Um die Bildung etwaiger Diastereomere zu untersuchen wurde die Liganden-Vorstufe **83** mit dem $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6$ Vorläufer in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol (1:1) umgesetzt. Die Zielverbindung **91** wurde in 67% Ausbeute erhalten und mittels NOESY-NMR-Spektroskopie untersucht (Schema 25).



Schema 25: Synthese des Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplexes **91**.

Dabei zeigte sich der erwartete Koordinationsmodus, bei dem die beiden Methylgruppen den gleichen Halbraum entlang der Benzolachse einnehmen, der Cyclopentadienylligand aber den anderen Halbraum einnimmt und so keine Kopplung der Methyl- bzw. Cyclopentadienylprotonen beobachtet werden kann (Abbildung 40).

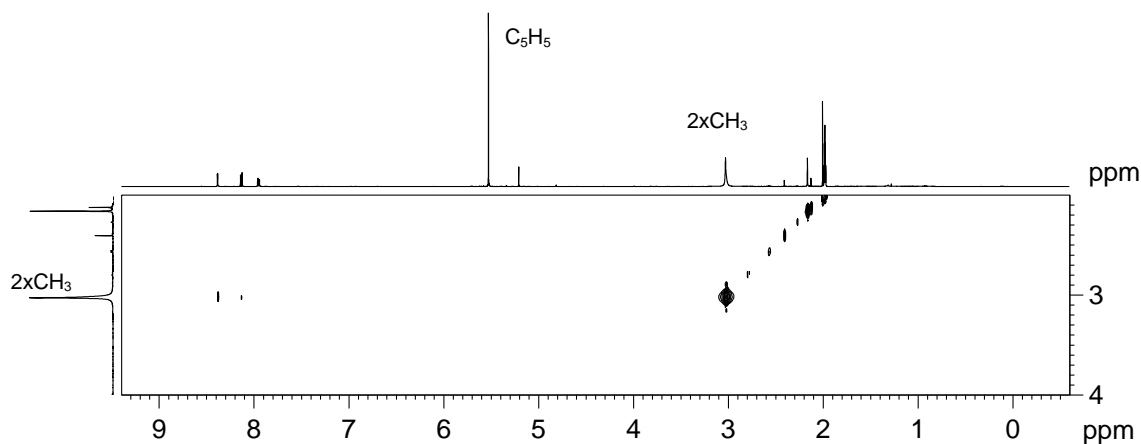
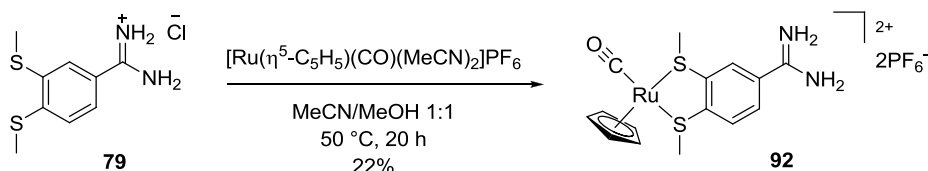


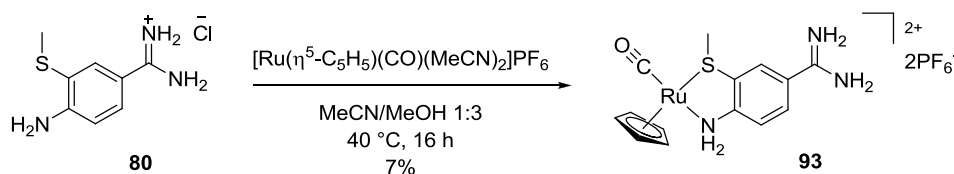
Abbildung 40: Ausschnitt des NOESY-Spektrums von Verbindung **91**. Es ist zu erkennen, dass keine Kopplung der Methyl- mit den Cyclopentadienylprotonen vorliegt.

LARA GOLDE untersuchte die Reaktion des Liganden **79** mit $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6$ in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol (1:1).^[126] Die Reinigung des Komplexes **92** musste über Umkehrphasen-HPLC erfolgen, da Säulenchromatographie nicht durchführbar war. Dabei wurde das Hauptprodukt in 22% Ausbeute isoliert. Auch hier sollte das Hauptprodukt das Diastereomer sein, bei dem die Methylgruppen und der Cyclopentadienylligand unterschiedliche Halbräume entlang der Benzolachse einnehmen. Der CO-Ligand dagegen sollte in die gleichen Halbräume wie die Methylgruppen orientiert sein.



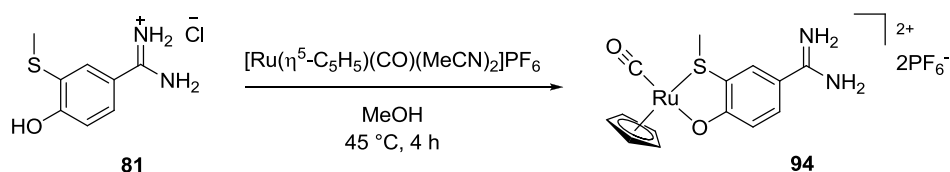
Schema 26: Synthese des Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplexes **92**.

Die Synthese des Halbsandwichkomplexes **93** gestaltete sich als wesentlich schwieriger, da eine Vielzahl an Produkten entstand. Der Komplex musste ebenfalls über Umkehrphasen HPLC gereinigt werden. Hier wurde das Hauptprodukt in einer Ausbeute von 7% isoliert (Schema 27). Das ^1H -NMR Spektrum zeigte, dass die Aminogruppe nicht deprotoniert wurde. Somit muss der Stickstoff mit seinem freien Elektronenpaar an das Metall koordinieren, wobei die Konjugation mit dem π -Elektronensystem des Aromaten aufgebrochen wird.



Schema 27: Synthese des Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplexes **93**.

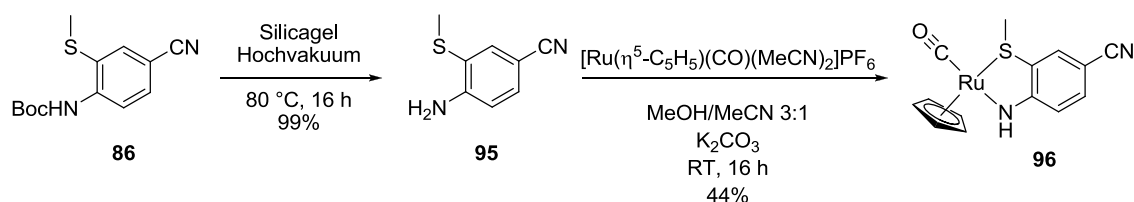
Auch Ligand **81** wurde zum entsprechenden Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplex umgesetzt (Schema 28). Wie zu erwarten war, koordinierte der Sauerstoff unter Protonenverlust wesentlich besser an das Metallzentrum. Die Reinigung des Rohproduktes gestaltete sich als weniger schwierig und Komplex **94** konnte durch Säulenchromatographie isoliert werden. Allerdings war es nicht möglich durch Zugabe von NH_4PF_6 das Anion auszutauschen. Dies ist allerdings nötig um sicher zu stellen, dass der Komplex nicht mit verschiedenen Gegen-Ionen vorliegt. Nach Entfernen des NH_4PF_6 Überschusses, löste sich der Komplex vollständig in Wasser und konnte nicht abfiltriert werden. Auch ein Wechsel auf das wesentlich hydrophobere Ph_4B^- Gegenion brachte nicht den gewünschten Erfolg, auch hier war der Komplex dennoch wasserlöslich. Die Reinigung per Umkehrphasen-HPLC ließ sich nicht durchführen. Amidine benötigen den Zusatz von Säure zum Eluenten und unter den gewählten Bedingungen war der Phenolatkomplex nicht stabil.



Schema 28: Synthese des Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplexes **94**.

Nach erfolgreicher Synthese der Liganden gestaltete sich die Synthese der Halbsandwichkomplexe als schwierig. Speziell der Phenolatkomplex **94** war zu gut wasserlöslich um das Gegenion

auszutauschen. Des Weiteren schien die stark elektronenziehende Amidgruppe die funktionelle Gruppe in *para*-Position stark negativ zu beeinflussen. Um den Einfluss der Amidin-Gruppe zu ermitteln wurde Verbindung **86** entschützt und mit $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6$ zum Halbsandwichkomplex **96** umgesetzt. Die Entschützung zum Amin **95** erfolgte durch Adsorption an Silicagel und Erhitzen im Hochvakuum. Anschließend wurde der Halbsandwichkomplex **96** durch Reaktion mit $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6$ unter Reaktion mit Kaliumcarbonat als Base dargestellt (Schema 29). Eine Deprotonierung desamins konnte bei Ligand **80** nicht durchgeführt werden.



Schema 29: Kontrollexperiment zur Untersuchung des Einflusses elektronenziehender Gruppen in *para*-Position zur Aminogruppe.

Ohne die Amidgruppe konnte der Komplex mit 44% in etwa siebenfacher Ausbeute im Vergleich zu **93** erhalten werden. Für das Design weiterer Inhibitoren sollte dies berücksichtigt werden und die chelatisierende Gruppe nicht direkt an das Benzamidin gebunden sein.

3.3.4 Untersuchung der biologischen Aktivität

Die Liganden **79**^[126] und **80**, sowie die Halbsandwichkomplexe **92**^[126] und **93** wurden gegen die Serinproteasen Trypsin, Thrombin und Urokinase getestet. Die zusammengefassten Ergebnisse sind in Abbildung 41 dargestellt.

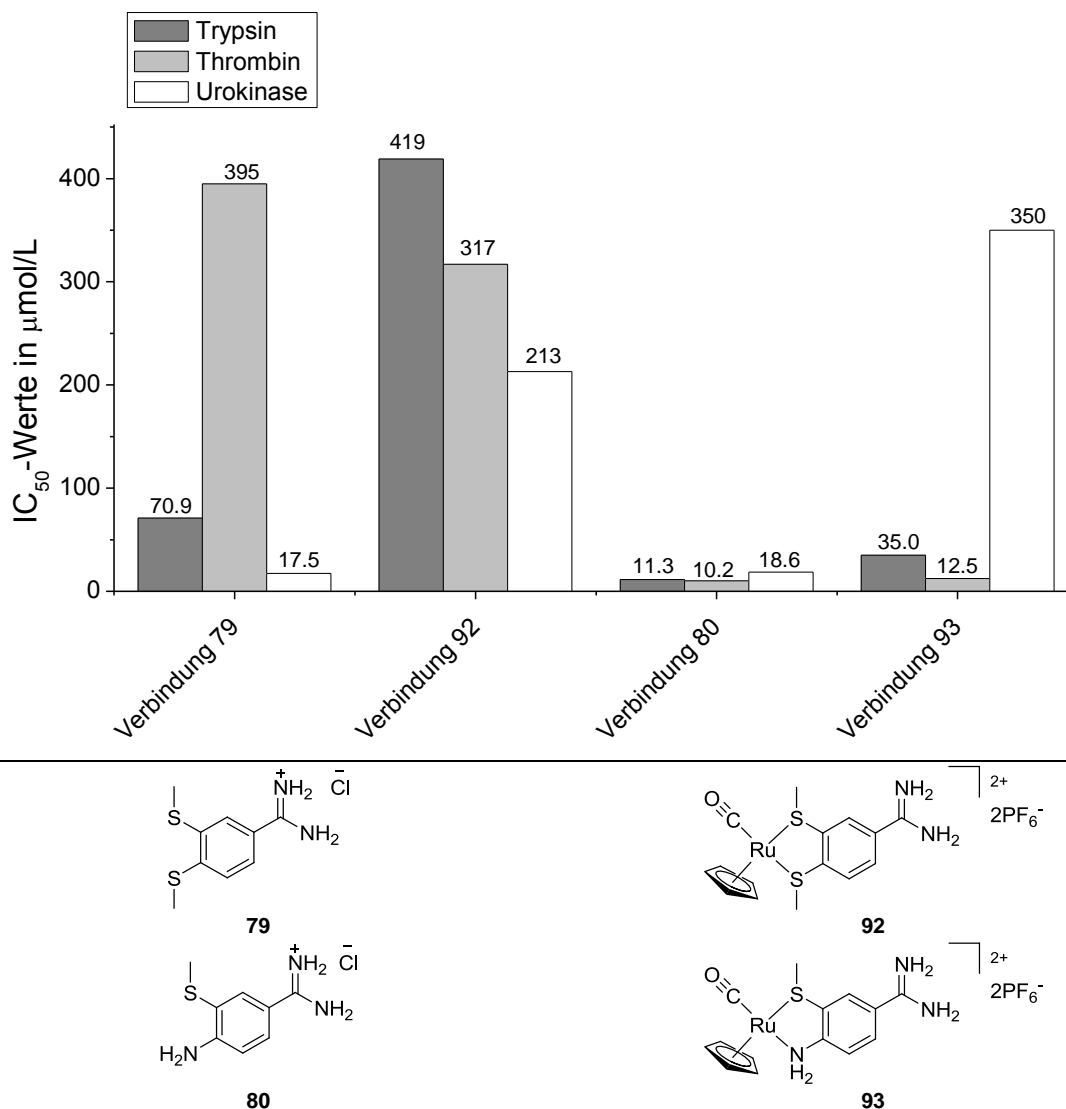


Abbildung 41: Übersicht der Messergebnisse der Liganden **79** und **80** sowie der Halbsandwichkomplexe **92** und **93** gegen Trypsin, Thrombin und Urokinase (IC₅₀-Werte in μmol/L). Verbindungen **79** und **92** wurden von LARA GOLDE im Rahmen einer Bachelorarbeit untersucht.^[126]

Ligand **79** zeigt die höchste Affinität für Urokinase mit einem IC₅₀-Wert von 17.5 μmol/L. Trypsin wird etwa vierfach schwächer inhibiert (70.9 μmol/L) und Thrombin sogar 22-fach schwächer (395 μmol/L). Bei Betrachtung des Halbsandwichkomplexes **92** ändern sich die Selektivitäten im Vergleich zum freien Liganden **79** geringfügig. Urokinase wird zwar noch immer am stärksten gehemmt (213 μmol/L), jedoch wesentlich schlechter als der Ligand (zwölfmal schlechter). Thrombin wird stärker inhibiert (317 μmol/L) als vom Liganden und die Thrombin/Urokinase Selektivität beträgt

nur noch einen Faktor von 1.5. Den geringsten Effekt besitzt der Halbsandwichkomplex **107** auf Trypsin, mit einem IC_{50} von 419 $\mu\text{mol/L}$.

Ligand **80** zeigt keine besondere Selektivität gegenüber allen drei Serinproteasen. Thrombin wird am stärksten mit einem IC_{50} von 10.2 $\mu\text{mol/L}$ inhibiert, Trypsin mit 11.3 $\mu\text{mol/L}$ nur unwesentlich schlechter und Urokinase zeigt 50% Restaktivität bei einer Konzentration von 18.6 $\mu\text{mol/L}$. Im Vergleich zu Ligand **79** scheint die Aminogruppe von Trypsin, vor allem aber von Thrombin bevorzugt zu sein. Der Halbsandwichkomplex **93** inhibiert Thrombin (12.5 $\mu\text{mol/L}$) und Trypsin (35.0 $\mu\text{mol/L}$) ebenfalls wesentlich besser als Komplex **92**. Die Trypsin/Thrombin Selektivität beträgt 1.6. Urokinase liegt mit einem IC_{50} von 350 $\mu\text{mol/L}$ in der gleichen Größenordnung wie Komplex **92**, was zu einer Urokinase/Thrombin-Selektivität von einem Faktor von 28 führt.

Die schlechte Affinität des Bismethylthioetherkomplexes **92** lässt sich über die sterische Abstoßung der *para*-Methylthioethergruppe mit der Enzymoberfläche erklären, wie das Modell des an Trypsin gebundenen Inhibitors veranschaulicht (Abbildung 42). Nach Koordination des Schwefels an das Metall zeigen beide Methylgruppen des vermutlich aktiveren Enantiomers im Tetraederwinkel in Richtung der Enzymoberfläche. Die Methylgruppe des Thioethers in *para*-Position kommt dabei in Kontakt mit Ser195 der katalytischen Triade. Des Weiteren ist die Distanz zwischen CO-Ligand und Gln192 ebenfalls sehr gering, so dass auch hier sterische Abstoßung zu erwarten ist, wenn auch in geringerem Maße. Die Methylgruppe des Thioethers in *ortho*-Position zum Amidin zeigt in die hydrophobe S1 β -Tasche und besitzt ausreichend Platz.

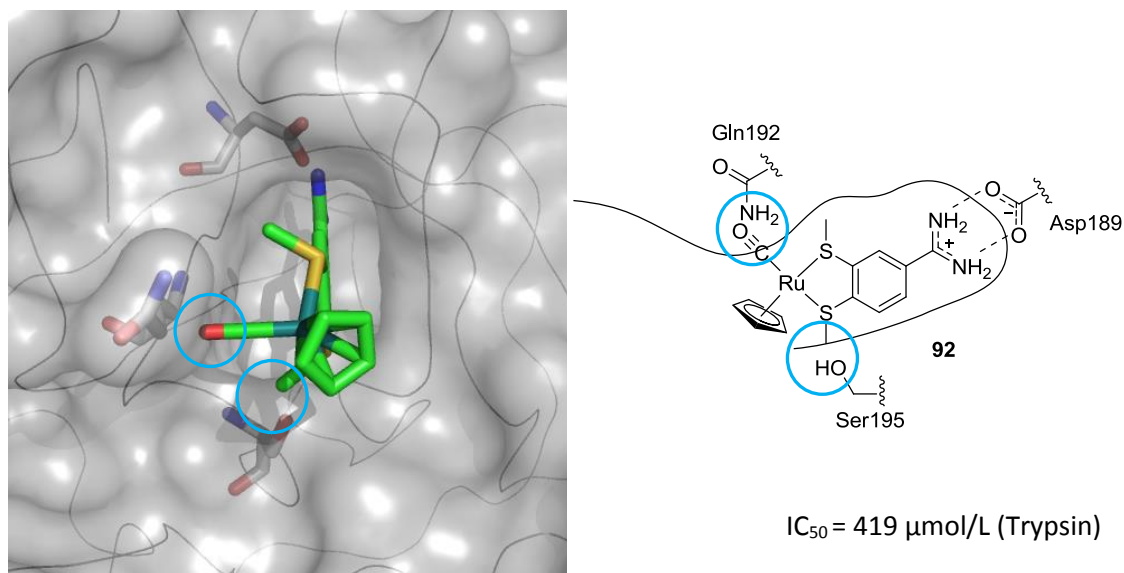
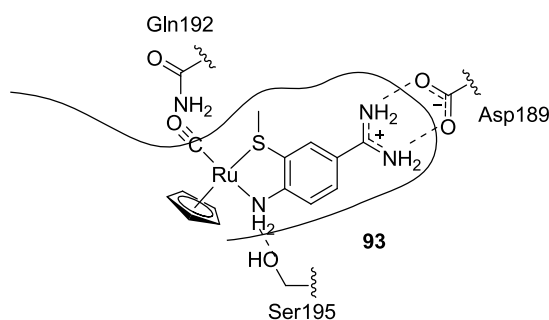


Abbildung 42 Erwarteter Bindungsmodus eines Enantiomers des Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplexes **92**. Hervorgehoben sind die Positionen, wo es zu sterischer Abstoßung kommt. Die Abbildung wurde mit CAChe basierend auf 1Y3U erstellt.

Bei Überlegungen zum anderen Enantiomer kann vermutet werden, dass der Cyclopentadienylligand mit Gln192 zwar nicht in Kontakt tritt, es sich aber dennoch um eine polare Aminosäure handelt, die auch polare Wechselwirkungen favorisiert. Die Methylgruppe des *para*-Thioethers stößt allerdings an

Ser213 und sollte also ebenfalls einen geringen Beitrag zur Gesamtaffinität leisten (zweites Enantiomer hier nicht gezeigt). Im unkoordinierten Liganden dagegen können die Methylgruppen frei rotieren und sich so anordnen, dass sie keine Abstoßung erfahren.

Wie aus der Abbildung 41 ersichtlich ist, führte der Austausch des *para*-Methylthioether von Ligand **79** durch eine Aminogruppe zur Steigerung der Affinität gegen die getesteten Serinproteasen. Sehr wahrscheinlich bildet die Aminogruppe Wasserstoffbrückenbindungen zum Ser195 aus. Besonders deutlich wird dies bei Thrombin, das alleine durch Einführung der Aminogruppe etwa 40-fach besser inhibiert wird (IC_{50} von 10.2 $\mu\text{mol/L}$ zu 395 $\mu\text{mol/L}$). Für Urokinase zeigt der Einbau der Aminogruppe in Ligand **80** keine Veränderung der Affinität, hier scheint es nicht zur Adressierung des Ser295 zu kommen. Der Halbsandwichkomplex **93** inhibiert Thrombin mit einem IC_{50} von 12.5 $\mu\text{mol/L}$ ähnlich dem Liganden, so dass vermutlich keine weiteren attraktiven Wechselwirkungen ausgebildet werden. So ergibt sich der in Abbildung 43 gezeigte Bindungsmodus.



$IC_{50} = 12.5 \mu\text{mol/L}$ (Thrombin)

Abbildung 43: Vorgeschlagener Bindungsmodus des Inhibitors **93**. Dargestellt ist die Salzbrücke zu Asp189 sowie die Wasserstoffbrücke zu Ser195. Vermutlich stößt der CO-Ligand mit Gln192 zusammen.

Trypsin besitzt eine Restaktivität von 50% bei einer Inhibitorkonzentration von 35.0 $\mu\text{mol/L}$ und wird somit etwas schlechter inhibiert. Urokinase dagegen wird nun am schlechtesten inhibiert, mit einem IC_{50} von 350 $\mu\text{mol/L}$. Durch Überlagerung der Benzamidinreste bekannter Inhibitoren lässt sich dieses Phänomen mit Hilfe der sterischen Abstoßung einzelner Aminosäure-Reste und den Liganden erklären (Abbildung 44). Die Asp189-, His54- und Ser214-Reste der verschiedenen Enzyme sind räumlich sehr ähnlich angeordnet. Der Ser195-Rest des Thrombins (grün) scheint etwas verschoben, so dass eine etwas günstigere Geometrie für Wasserstoffbrücken zur Aminogruppe gegeben ist. Der größte Unterschied liegt in der Anordnung der 192-Reste. Der Glu192-Rest des Thrombins ragt nicht so weit in Richtung S1-Tasche, wie der Gln192-Rest des Trypsins (grau). Der Gln192 Rest der Urokinase (magenta) ist um 90° verdreht und ragt am weitesten in Richtung S1-Tasche. Die Abstoßung der Liganden ist also bei Urokinase am größten, was sich in der geringen Affinität der Metallkomplexe gegenüber Urokinase auch zeigt.

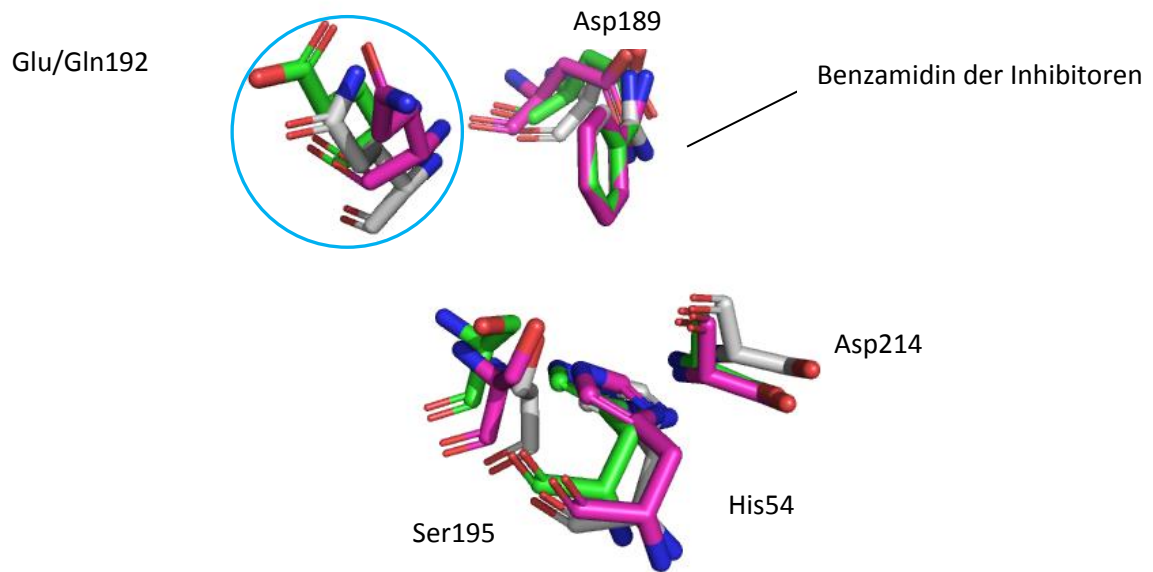


Abbildung 44: Vergleich der Anordnung ausgewählter Aminosäuren der Enzyme Trypsin (grau), Thrombin (grün) und Urokinase (magenta). Diese Abbildung wurde mit PyMOL unter Verwendung von 1Y3U, 2CF8 und 1OWE durch Überlagerung der Benzamidin-Reste erstellt.

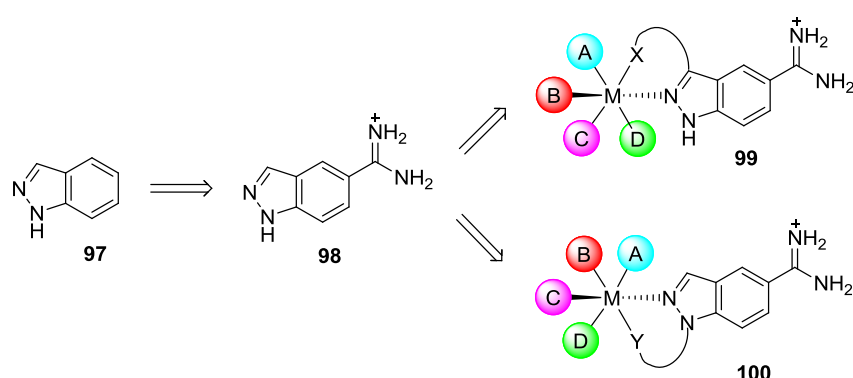
Fazit

Die Benzamidininhibitoren ließen sich in relativ wenigen Schritten herstellen, wobei sich das Phenolat-Derivat nicht sauber isolieren ließ. Die beiden anderen Derivate konnten nur nach HPLC-Reinigung in geringen Ausbeuten erhalten werden. Verantwortlich für die niedrigen Ausbeuten zeigte sich der stark elektronenziehende Effekt der Amidgruppe, so dass idealerweise im zukünftigen Design ein größerer Abstand zwischen Benzamidin und Chelatligand eingeplant werden soll. Allerdings konnte gerade durch die Positionierung des Metalls nahe am aktiven Zentrum der Serinproteasen Selektivität generiert werden, was bei den DPPZ-Liganden und Bipyridin-Liganden nicht der Fall war.

3.4 Indazole als Serinprotease-Inhibitoren

3.4.1 Ligandendesign

Da sich das Design des Methylthioetherliganden als nicht praktikabel herausstellte, sollte ein neues Design entwickelt werden. Wie sich aus den vorangegangenen Studien zeigte, sind chelatisierende Heteroatome direkt am Benzamidin hinderlich für die Ausbildung stabiler Komplexe in hohen Ausbeuten. Daher sollte nun das etwas größere Indazol-Grundgerüst **97** als P1-Rest dienen. Nach Einführung eines Amidins an der 5-Position (**98**) stehen die 1-Position und die 3-Position für weitere Funktionalisierungen zum Chelatliganden zur Verfügung. So könnten zwei strukturell unterschiedliche Liganden erhalten werden (**99** und **100**, Schema 30).



Schema 30: Geplantes Vorgehen bei der Entwicklung weiterer Serinprotease-Inhibitoren basierend auf dem Indazol Strukturmotiv. A, B, C und D symbolisieren verschiedene Liganden in einem oktaedrischen Metallkomplex.

Aus Arbeiten mit organischen Indol-Inhibitoren^[127] ist bekannt, dass die NH-Gruppe Wasserstoffbrücken mit Ser195 bildet. Dies sollte ebenfalls bei dem Indazolgerüst der Fall sein. Der Entwurf der Liganden ist in Abbildung 45 dargestellt. Verbindungen **101** und **102** entsprechen dem Grundgerüst **99**, wobei zwei unterschiedliche Reste an der 3-Position untersucht werden sollten. Zum einen eine Carbonsäure mit geringerem Platzbedarf und zum anderen der hydrophobere Pyridylrest. Als Vertreter des Strukturmotivs **100** sollte die Carbonsäure **103** hergestellt werden.

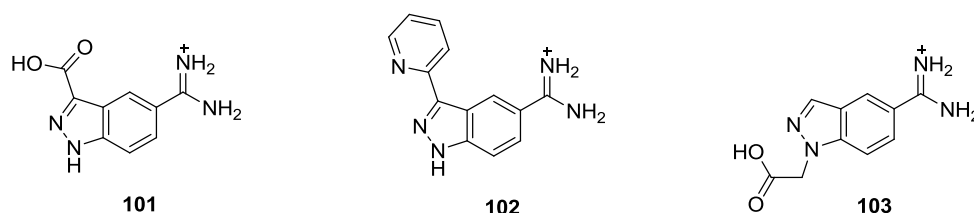
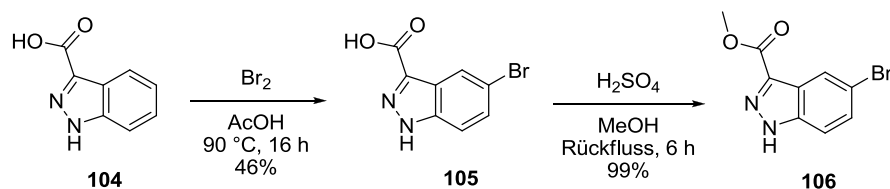


Abbildung 45: Entwurf der Liganden: Verbindung **101** mit der polaren, aber sterisch weniger anspruchsvollen Carboxylgruppe, Verbindung **102** mit dem hydrophoberen Pyridylrest und Verbindung **103** mit einer Carboxylgruppe am Indazol-Stickstoff.

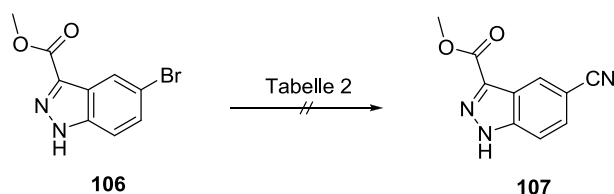
3.4.2 Synthese des Liganden

Als Startpunkt für die Synthese von Verbindung **101** wurde die kommerziell erhältliche 1*H*-Indazol-3-carbonsäure **104** gewählt. Im ersten Schritt wurde diese in 46% Ausbeute in Essigsäure bromiert (**105**).^[128] Durch Erhitzen in Methanol mit katalytischer Menge Schwefelsäure wurde der Methylester **106** in quantitativer Ausbeute erhalten (Schema 31).



Schema 31: Synthese von Verbindung **106** ausgehend von 1*H*-Indazol-3-carbonsäure **104** in einer zweistufigen Reaktionssequenz.

Verbindung **106** sollte nun durch eine ROSENMUND-VON-BRAUN Reaktion in die entsprechende Nitrilverbindung überführt werden. Standardmäßig wird diese Reaktion in DMF mit Kupfercyanid^[129] durchgeführt, was allerdings mit **106** als Substrat fehlschlug. Zusätzlich wurden weitere Varianten getestet: Eine Variante mit katalytischer Menge an Kupfercyanid und der Verwendung von Natriumcyanid als Cyanidquelle,^[141] eine Variante unter Zusatz chelatisierender Liganden,^[131] sowie ein Palladium-katalysiertes Verfahren.^[132] Bei allen Verfahren konnte das gewünschte Produkt nicht isoliert werden (Schema 32, Tabelle 2), die IR-Bande ließ sich in den nach Säulenchromatographie isolierten Fraktionen nicht nachweisen und auch NMR-Analytik zeigte das gewünschte Produkt nicht.

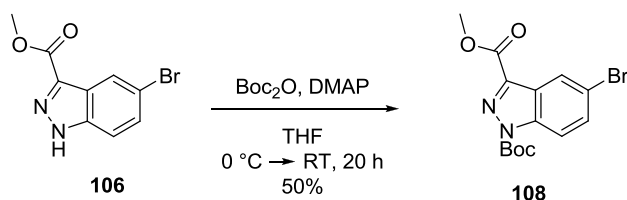


Schema 32: Versuchte Synthese von Verbindung **107** unter Verwendung der in Tabelle 2 aufgeführten Bedingungen.

Tabelle 2: Getestete Bedingungen bei der Synthese von Indazolverbindung **107**.

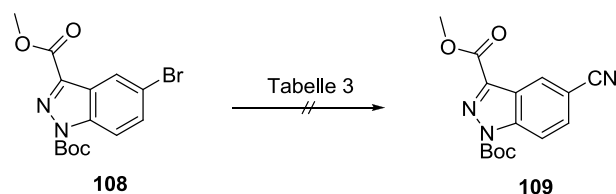
Lösungsmittel	Cyanidquelle	Zusatz	Temperatur	Reaktionsdauer
DMF	CuCN	--	153 °C	4.5 h
DMF	CuCN	--	153 °C	16 h
DMF	NaCN	CuCN	153 °C	16 h
DMF	Zn(CN) ₂	[Pd(PPh ₃) ₄]	153 °C	16 h
DMF	NaCN	KI, CuI, DMEDA	180 °C	16 h

Da Verbindung **107** nicht erhalten werden konnte, wurde die freie NH-Funktion von **106** mit der *tert*-Butylcarbamatschutzgruppe versehen. Dazu wurde **106** mit Di-*tert*-butylcarbonat in Tetrahydrofuran unter 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin-Katalyse umgesetzt und die geschützte Verbindung **108** wurde in 50% Ausbeute erhalten (Schema 33).



Schema 33: Synthese der Boc-geschützten Verbindung **108**.

Es wurde versucht die geschützte Verbindung **108** unter verschiedenen Bedingungen zum Nitril **109** umzusetzen, allerdings konnte die gewünschte Verbindung **109** wiederum nicht erfolgreich isoliert werden (Schema 34, Tabelle 3).

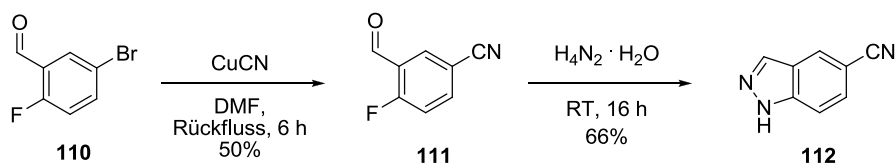


Schema 34: Synthese von Verbindung **109** unter Verwendung der in Tabelle 3 aufgeführten Bedingungen.

Tabelle 3: Getestete Bedingungen bei der Synthese von Indazolverbindung **109**.

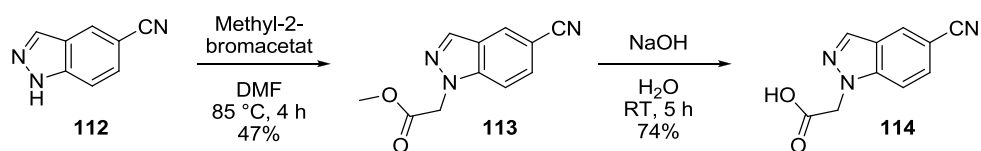
Lösungsmittel	Cyanidquelle	Zusatz	Temperatur	Reaktionsdauer
DMF	CuCN		153 °C	16 h
DMF	NaCN	CuCN	153 °C	16 h
DMF	Zn(CN) ₂	[Pd(PPh ₃) ₄]	153 °C	16 h
DMF	NaCN	KI, CuI, DMEDA	180 °C	16 h

Da es unter den getesteten Bedingungen nicht möglich war die Indazolverbindung zu synthetisieren, wurde auf weitere Studien zur Synthese von Verbindung **109** verzichtet. Die Synthesen der Verbindungen **102** und **103** beginnen beide mit dem Aufbau des 5-Cyano-1*H*-Indazol Grundgerüsts. Nach einer modifizierten literaturbekannten Synthesevorschrift^[133] wurde 2-Brom-5-fluorbenzaldehyd **110** mit Kupfer(I)cyanid durch eine ROSENMUND-VON-BRAUN Reaktion zum Nitril **111** in 50% Ausbeute umgesetzt. Nach Reaktion mit Hydrazin-Hydrat wurde daraus das Indazol-Grundgerüst **112** in 66% Ausbeute erhalten (Schema 35).



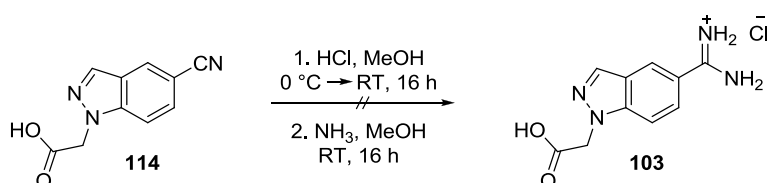
Schema 35: Synthese von Verbindung **112** ausgehend von 2-Brom-5-fluorbenzaldehyd **110** in einer zweistufigen Reaktionssequenz.

Das Grundgerüst **112** wurde in einer S_N2-Reaktion mit Methyl-2-bromacetat in DMF umgesetzt (**113**). Das Produkt wurde dabei in 47% Ausbeute erhalten. Im nächsten Schritt wurde der Ester in 74% Ausbeute basisch in Wasser hydrolysiert (**114**, Schema 23).



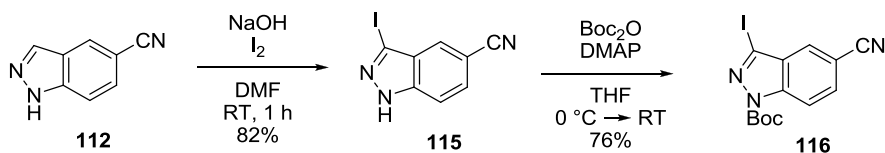
Schema 36: Synthese von Verbindung **114** ausgehend von 5-Cyano-1H-indazol **112** in einer zweistufigen Reaktionssequenz.

Im letzten Schritt zum finalen Liganden **103** sollte die Nitrilfunktion durch die PINNER-Reaktion in die Amidgruppe umgewandelt werden (Schema 37). Das Produkt konnte allerdings nicht isoliert werden, da es unter den harschen Bedingungen zu Zersetzung kam.



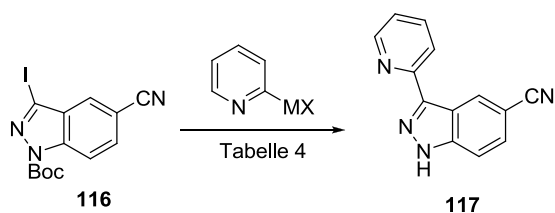
Schema 37: Versuchte Synthese von Verbindung **103** unter PINNER Standardbedingungen.

Stattdessen wurde Verbindung **112** selektiv an der 3-Position iodiert. Dazu wurde 5-Cyano-1H-indazol nach einer literaturbekannten Vorschrift mit Natriumhydroxid und Iod in DMF umgesetzt (82% Ausbeute, Schema 38).^[134] Zur Verbesserung der Löslichkeit wurde Verbindung **115** mit der Boc-Schutzgruppe in 76% Ausbeute versehen (Verbindung **116**).



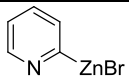
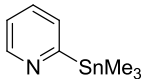
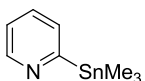
Schema 38: Synthese von Verbindung **116** in einer zweistufigen Synthese ausgehend von 5-Cyanoindazol **112**.

Die Kreuzkupplung wurde unter verschiedenen Bedingungen mit Tetrakis-triphenylphosphinpalladium(0) als Katalysator getestet. Eine NEGISHI-Kupplung in Tetrahydrofuran führte nicht zum gewünschten Produkt. Lediglich das Edukt konnte reisoliert werden. Auch eine STILLE-Kupplung in Tetrahydrofuran schlug fehl. Nach Wechsel des Lösungsmittels zu *ortho*-Xylol konnte Pyridylindazol **117** in 37% Ausbeute erhalten werden (Schema 25).



Schema 39: Synthese von Verbindung **117** unter Verwendung der in Tabelle 4 aufgeführten Bedingungen.

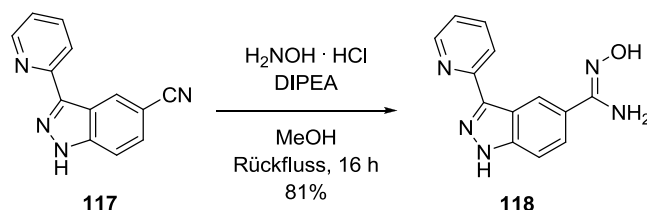
Tabelle 4: Getestete Bedingungen bei der Synthese der Indazolverbindung **117**.

Variante	Substrat	Lösungsmittel	Reaktionszeit	Ausbeute
NEGISHI		THF	24 h	-
STILLE		THF	24 h	-
STILLE		<i>ortho</i> -Xylol	16 h	37%

Nach den negativen Erfahrungen aus vorangegangenen Studien mit Bipyridin-Analoga^[98,135] und der PINNER-Reaktion sollte hier zur Synthese des Amidins eine weitere Route getestet werden. Die basischen Bipyridine scheinen für die stark sauren Bedingungen nicht geeignet zu sein und es wurde jeweils nur nicht umgesetztes Nitril zurückerhalten. Vermutlich werden die Bipyridin-Stickstoffe vor der Nitrilgruppe protoniert, was die Reaktivität zum Imidat stark vermindert. Außerdem wurde aus den Studien mit dem Phenolatliganden erwartet, dass die Komplexe aufgrund der freien N-H-Gruppe zu hydrophil sowie hoch wasserlöslich sein könnten, womit sich Probleme bei der Reinigung und bei der Abtrennung von Salzen ergeben würden. Zusätzlich sollte eine Schutzgruppe etabliert werden, die im letzten Schritt nach der Komplexierungsreaktion möglichst quantitativ abgespalten werden kann. Auf eine Aufreinigung per HPLC könnte so jeweils verzichtet werden, was im Hinblick auf weitere Projekte ein großer Vorteil wäre.

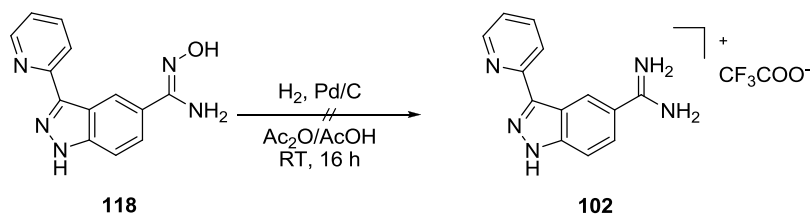
Nitrile können mit Hydroxylamin in Oxime überführt werden, die dann in einer Eintopf-Reaktion mit Essigsäureanhydrid aktiviert und mit Wasserstoff und Palladium auf Aktivkohle zum Amidin reduziert werden.^[136] Des Weiteren können diese Oxime auch als Prodrug eingesetzt werden, die dann im Körper von speziellen Enzymen zum Amidin umgesetzt werden.^[8]

Im ersten Schritt der Amidinsynthese wurde 5-Cyano-3-(pyridin-2-yl)-1*H*-indazol **117** mit Hydroxylamin-Hydrochlorid und Diisopropylethylamin in Methanol zum Oxim **118** umgesetzt. Das Produkt konnte dabei in 81% Ausbeute isoliert werden (Schema 40).

**Schema 40:** Synthese von Verbindung **118** unter Verwendung von Hydroxylamin-Hydrochlorid und DIPEA in 81% Ausbeute.

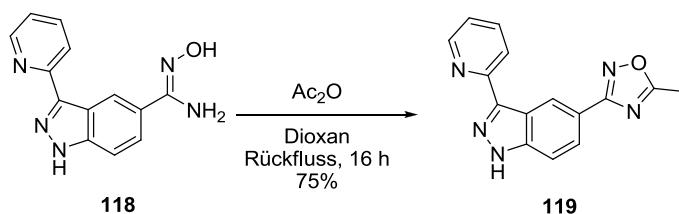
Anschließend wurde Verbindung **118** unter Wasserstoffatmosphäre in einem Gemisch aus Essigsäureanhydrid und Essigsäure hydriert. Die Reduktion zum freien Liganden **102** schlug unter den gewählten Bedingungen fehl (Schema 41). Wie JUDKINS *et al.* in ihren Studien zur Reduktion von Phenylloximen herausfanden, beeinflusst das Substitutionsmuster am Aromaten die Reaktivität des

Oxims,^[136] sodass bei unreaktiven Oximen entweder Trifluoressigsäure^[136] oder aber Ammoniumformiat als Reduktionsmittel verwendet werden muss.^[137] Beide Ansätze sollten allerdings nicht mit den späteren Komplexen kompatibel sein und so wurde versucht die Reduktion bei möglichst milden Bedingungen durchzuführen.



Schema 41: Synthese von Verbindung **102**. Die Reduktion des aktivierten Oxims zum freien Liganden konnte nicht durchgeführt werden.

Daher wurde versucht das aktivierte Oxim als Intermediat zu isolieren, indem Verbindung **118** in 1,4-Dioxan mit Essigsäureanhydrid umgesetzt wurde. Dabei konnte Verbindung **119** in 75% Rohausbeute isoliert werden (Schema 42).

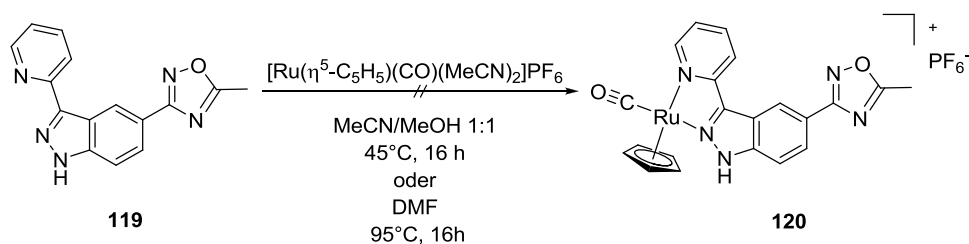


Schema 42: Synthese von Verbindung **119**. Das aktivierte Oxim konnte in 75% Ausbeute erhalten werden.

3.4.3 Synthese der Metallkomplexe

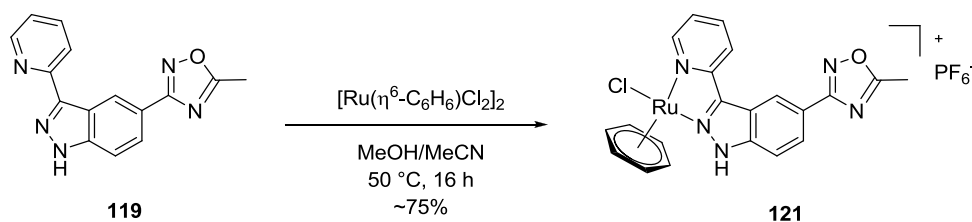
Synthese pseudooktaedrischer Halbsandwichkomplexe

Mit dem Indazol-Liganden sollte eine Bibliothek an Metallkomplexen bestehend aus Halbsandwich- und oktaedrischen Komplexen synthetisiert werden. Dazu wurde der Ligand mit den Standardvorläufern umgesetzt. Nach Reaktion mit dem $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6$ -Vorläufer konnte der gewünschte Komplex **120** unter verschiedenen Bedingungen nicht erhalten werden. (Schema 43).



Schema 43: Getestete Bedingungen zur Synthese von Verbindung **120** unter Verwendung des $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6$ -Vorläufers.

Dagegen gelang die Synthese des Halbsandwichkomplexes **121**. Die Reaktion wurde in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol (1:1) mit dem $[\text{Ru}(\eta^6\text{-C}_6\text{H}_6)\text{Cl}_2]_2$ -Vorläufer durchgeführt und Verbindung **121** wurde in 75% Ausbeute erhalten (Schema 44).



Schema 44: Synthese von Verbindung **121** unter Verwendung des $[\text{Ru}(\eta^6\text{-C}_6\text{H}_6)\text{Cl}_2]_2$ -Vorläufers.

Allerdings schien das Produkt nicht stabil zu sein. Das ^1H -NMR-Spektrum zeigte zusätzliche Resonanzen, vor allem bei 6.00 ppm und im aromatischen Bereich (Abbildung 46).

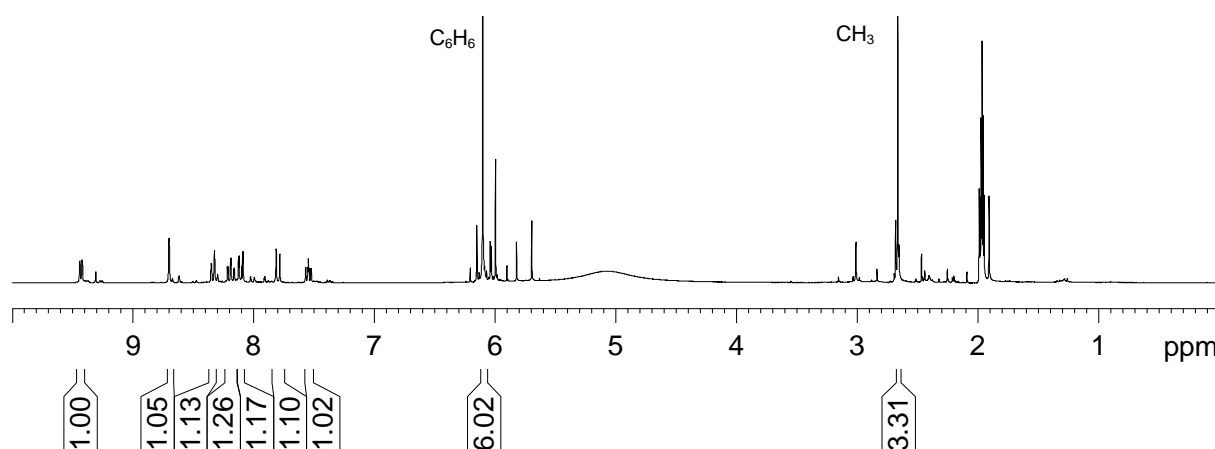
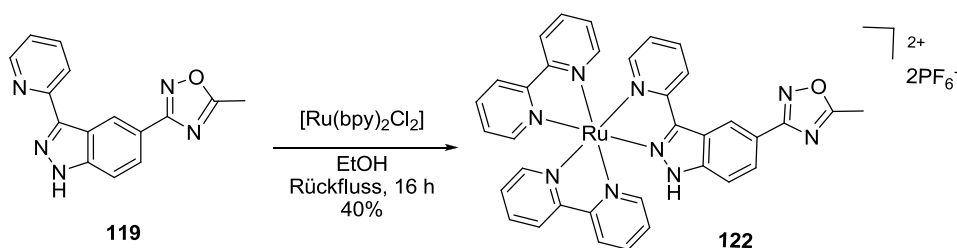


Abbildung 46: Darstellung des ^1H -NMR-Spektren von Verbindung **121**. Die zusätzlichen Resonanzen bei 6.00 ppm lassen darauf schließen, dass das Produkt nicht stabil genug ist.

Synthese oktaedrischer Komplexe

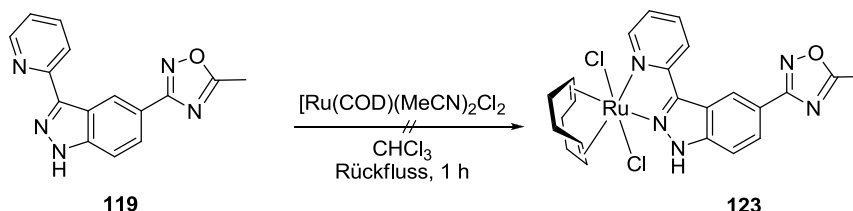
Als erster Vertreter oktaedrischer Komplexe wurde ein Bipyridinkomplex synthetisiert. Dazu wurde der $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{Cl}_2]$ -Vorläufer zusammen mit dem Liganden in Ethanol erhitzt und der gewünschte Komplex konnte in 40% Ausbeute isoliert werden (Schema 45).



Schema 45: Synthese von Verbindung **122** unter Verwendung des $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{Cl}_2]$ -Vorläufers.

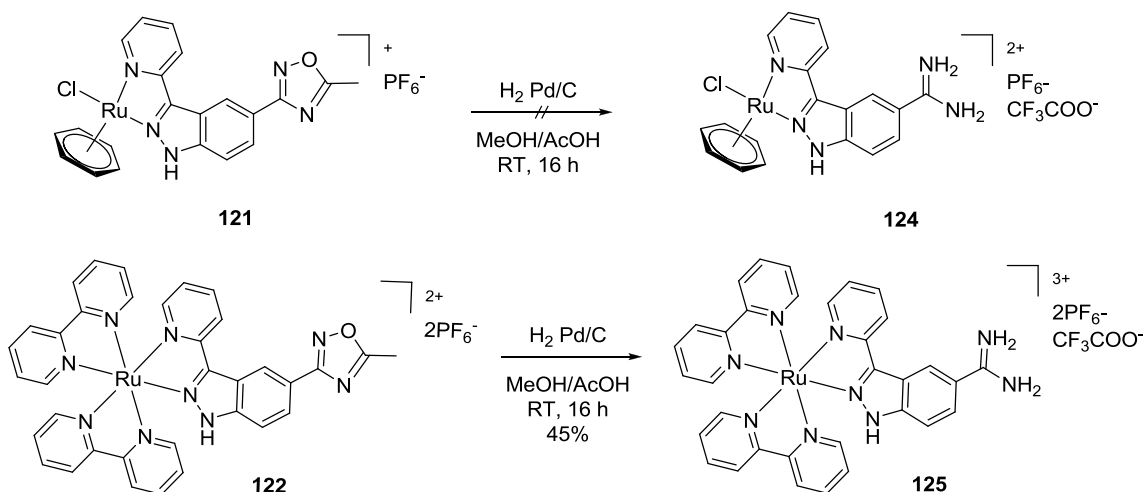
Als weiterer oktaedrischer Komplex sollte ein 1,5-Cyclooctadienkomplex mit zwei kleinen axialen Chloridoliganden hergestellt werden.^[137] Dieses System bietet den Vorteil, dass hier die

Chloridoliganden ausreichend Platz gegenüber den 192-Aminosäuren besitzen, wobei der hydrophobe 1,5-Cyclooctadienligand in Richtung der Enzymoberfläche orientiert ist. Der literaturbekannte Komplex $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{COD})(\text{MeCN})_2\text{Cl}_2]$ ^[138] wurde dazu mit dem Liganden in Chloroform als Lösungsmittel umgesetzt. Der gewünschte Komplex **123** konnte allerdings nicht isoliert werden (Schema 46).



Schema 46: Versuchte Synthese von Verbindung **123** unter Verwendung des $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{COD})(\text{MeCN})_2\text{Cl}_2]$ -Vorläufers in Chloroform.

Im finalen Schritt sollte das Oxim der beiden erhaltenen Komplexe **121** und **122** zum Amidin reduziert werden. In Studien zeigte sich, dass für diese Reaktion saure Bedingungen dringend notwendig sind.^[136] Dabei wurden die Komplexe in einem Gemisch aus Methanol und Essigsäure (10:1) gelöst und unter Wasserstoffatmosphäre, katalysiert durch Palladium auf Kohle hydriert (Schema 47).



Schema 47: Reduktion der Indazolkomplexe **121** und **122** unter Wasserstoffatmosphäre und mit Pd/C als Katalysator. Die Reduktion war lediglich für den stabilen Bipyridin-Komplex **125** erfolgreich.

Allerdings wurde dabei lediglich der Bipyridinkomplex reduziert und konnte sauber ohne weitere Aufarbeitung isoliert werden. In Abbildung 47 sind die ^1H -NMR-Spektren des Edukts und des Produkts gezeigt. Der Halbsandwichkomplex **124** dagegen zersetzte sich vollständig und das Produkt konnte nicht isoliert werden.

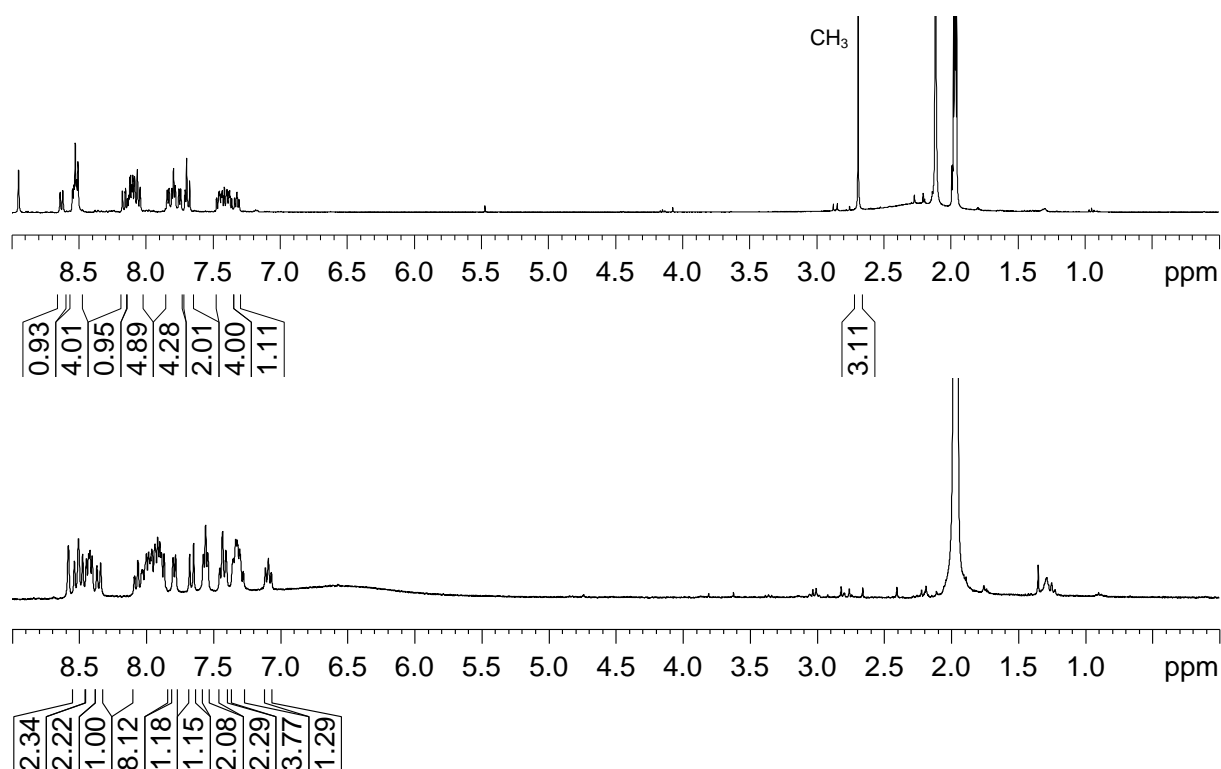


Abbildung 47: Vergleich der ^1H -NMR-Spektren des Edukts **122** (oben) und des Produkts **125** (unten). Das Verschwinden der CH_3 -Gruppe ist zu erkennen.

Die Synthese des Indazol-Liganden ließ sich mit einigen Schwierigkeiten bewerkstelligen, allerdings konnte lediglich ein Komplex erfolgreich synthetisiert werden. Weitere Versuche führten zu Fehlschlägen: Bei der Synthese des Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplexes sowie des oktaedrischen COD-Komplexes konnte das Produkt nicht isoliert werden und die Reduktion des semilabilen Benzol-Halbsandwichkomplexes schlug fehl. Da sich gerade die interessanten Verbindungen mit pseudo-oktaedrischer Geometrie sowie kleiner axialer Liganden nicht synthetisieren ließen, wurde auf weitere Studien zur Oximaktivierung verzichtet und die biologische Aktivität des Bipyridin-Komplexes wurde untersucht.

3.4.4 Untersuchung der biologischen Aktivität

Der Bipyridinkomplex **125** wurde nun gegen die Serinproteasen Trypsin und Thrombin getestet. Auf eine Untersuchung von Urokinase wurde verzichtet, da der Gln192-Rest sehr weit in Richtung S1-Tasche ragt und somit eine niedrige Affinität zu erwarten ist. Zuerst wurde hier die Restaktivität des Enzyms bei 100 $\mu\text{mol/L}$ und bei 1 $\mu\text{mol/L}$ Inhibitorkonzentration untersucht, um eine erste Aussage zur Selektivität zu treffen (Abbildung 48).

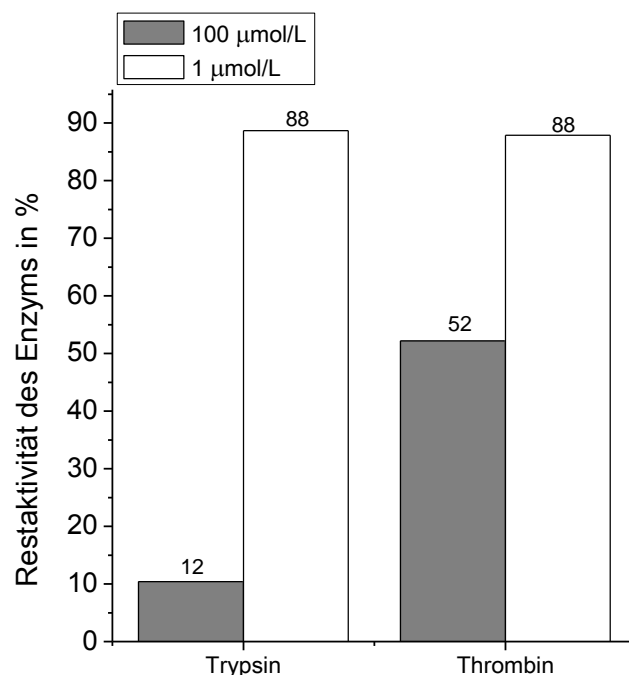


Abbildung 48: Messung der Enzymrestaktivität von Trypsin und Thrombin bei einer Inhibitorkonzentration von 100 $\mu\text{mol/L}$ (grau) und 1.00 $\mu\text{mol/L}$ (weiß).

Anhand der Ergebnisse aus Abbildung 48 lässt sich auf eine bevorzugte Trypsin-Selektivität schließen, die Restaktivität bei einer Inhibitorkonzentration von 100 $\mu\text{mol/L}$ beträgt 10%. Thrombin besitzt dagegen bei dieser Konzentration eine Restaktivität von 52%, der IC_{50} der Verbindung gegen Thrombin liegt also knapp über 100 $\mu\text{mol/L}$ und auf eine genaue Bestimmung des Thrombin IC_{50} -Wertes wurde verzichtet. Für Trypsin wurde ein IC_{50} -Wert von 14.2 $\mu\text{mol/L}$ erhalten.

Der IC_{50} -Wert für Trypsin zeigt, dass die Wechselwirkungen zwischen Inhibitor und Enzym nicht optimal sind. Zwar bindet der Inhibitor, allerdings scheint die globuläre Struktur nicht perfekt in das aktive Zentrum zu passen. Ein Modell des an Trypsin gebundenen Inhibitors wurde mit dem Programm CAChe erstellt und ist in Abbildung 49 dargestellt. Die starre Verbindung stößt mit einem der beiden Bipyridinliganden vermutlich an Gln192 und attraktive Wechselwirkungen können nicht ausgebildet werden. Komplexe mit sterisch weniger anspruchsvollen Liganden, konnten nicht erhalten werden, so dass der Indazolligand nicht weiter untersucht wurde.

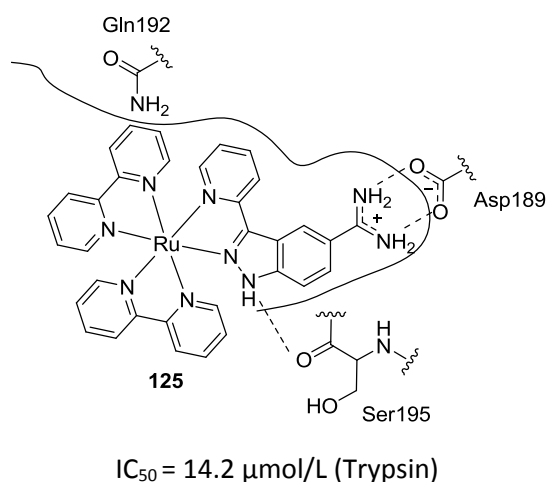
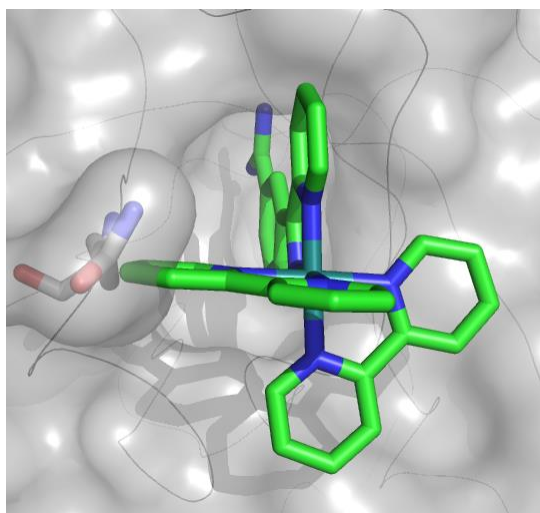


Abbildung 49: Erwarteter Bindungsmodus oktaedrischen Bipyridin-Komplexes **125**. Die Abbildung wurde mit CAChe basierend auf 1Y3U erstellt. Zu sehen ist die sterische Abstoßung zwischen dem Bipyridin-Ligand und Gln192.

Fazit

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass Ligand **119** in einer linearen siebenstufigen Synthese erhalten wurde. Dabei wurde ein Indazol in einer STILLE-Kupplung umgesetzt. In der Literatur sind hauptsächlich SUZUKI-Kupplungen mit Indazolboronsäuren als Substrate bekannt.^[134] Des Weiteren wurde hier ein neuartiger Ansatz beschritten, bei dem das aktivierte Oxim als Schutzgruppe für die Amidgruppe verwendet wurde. Anschließend wurden verschiedene Metallkomplexe synthetisiert, allerdings konnte die Reduktion nur bei dem stabilen Bipyridinkomplex **125** quantitativ und ohne Entstehung von Nebenprodukten durchgeführt werden. Dieser Komplex lieferte keine interessanten Ergebnisse, da der sterische Anspruch zu groß für die Position des Metalls ist. Insgesamt führte die Synthese des Amidins des Öfteren zu Problemen, so dass nach alternativen Herangehensweisen gesucht werden musste. Als vielversprechend gestaltete sich der Austausch des P1 Restes gegen einen nicht-basischen und nicht-kordinierenden Rest, der in Folge eines Optimierungsprozesses wieder gegen einen Amidin-Rest ausgetauscht werden sollte, um maximale Affinität zu garantieren.

3.5 Triazolkomplexe als Thrombininhibitoren

3.5.1 Ligandendesign

Aus den vorherigen Ergebnissen war ersichtlich, dass kleine, starre Benzamidin-Liganden zum einen schwierig zu handhaben sind und zum anderen mit den ebenfalls starren Serinproteasen nicht harmonieren. Trypsin und Urokinase besitzen eine zu gering ausgeprägt strukturierte Oberfläche, als dass organometallische Inhibitoren Enzymtaschen zum Ausfüllen vorfinden. Organische Substrate wie Polypeptide besitzen hier eindeutig Vorteile. So sind bei Peptidketten die Amidbindungen in regelmäßigen Abständen komplementär zum Protein in einer β -Faltblatt-artigen Struktur angeordnet. Gerade diese Amidbindungen bilden Wasserstoffbrückenbindungen zum Enzym aus und generieren so eine sehr hohe Affinität. Wasserstoffbrückenbindungen mit einem organometallischen Inhibitor zu imitieren ist in den vorangegangenen Arbeiten noch nicht geglückt. Thrombin dagegen besitzt wohl definierte und hydrophobe Enzymtaschen (Abbildung 50). Hier würde ein organometallischer Inhibitor eine dreidimensionale Struktur vorfinden, die es mit Liganden auszufüllen gilt. Allerdings wird dabei eine gewisse Flexibilität benötigt, damit sich der P1-Rest an der Thrombinschleife vorbei ausrichten und das Metallzentrum samt Liganden positionieren kann.

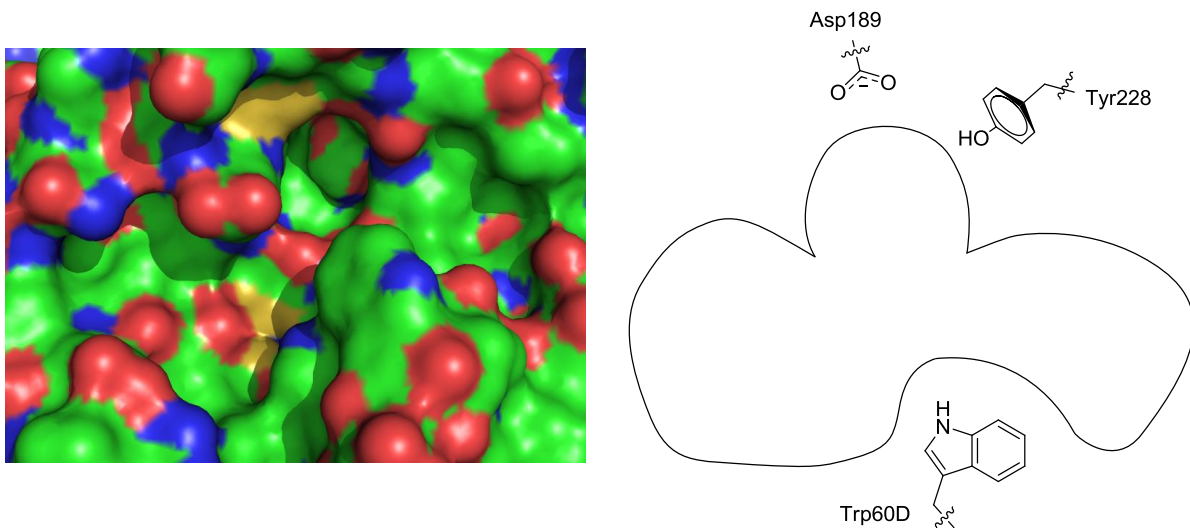


Abbildung 50: Darstellung des aktiven Zentrums von Thrombin. Links: Kristallstruktur von Thrombin (PDB: 2ZC9). Rechts: vereinfachtes Schema mit den wichtigen Aminosäuren Asp189 und Tyr228 sowie der Thrombinschleife Trp60D.

Ein neues Design sollte daher für Thrombin als Zielprotein konzipiert werden. Viele Thrombin-Inhibitoren zeigen mehrere Besonderheiten, die in das Design einfließen sollten. Ein Thrombininhibitor muss nicht zwangsläufig eine Amidin-Gruppe als P1-Rest besitzen. In der Thrombin S1-Tasche befindet sich Tyr228 und dieser Rest ist in der Lage Halogen- π Wechselwirkungen auszubilden (s.u.).^[139] Dabei scheint das Chloratom aufgrund der Atomgröße und Polarisierbarkeit besonders geeignet, allerdings ist die Bindung weniger stark als die Salzbrücke des

Amidins zum Aps189.^[140] An Trypsin binden Chlorbenzyl-Verbindungen nicht und somit kann Selektivität gewonnen werden. Als Nebeneffekt wirkt sich der Wechsel der Amidin-Gruppe zu einem ungeladenen P1-Rest außerdem positiv auf die Bioverfügbarkeit aus.

Der direkte Vergleich eines Chlorbenzyl-Inhibitors und eines Amidin-Inhibitors mit den gleichen P2- und P3-Resten ist in Abbildung 51 dargestellt. Die P2- und P3-Reste sind nahezu identisch in den Enzymtaschen ausgerichtet. Die CH₂-Gruppe am Phenylring sorgt für die nötige Flexibilität, damit sich der starre Prolin-Rest unterhalb der Thrombinschleife ausrichten kann. Die Carbonylgruppe sowie die Aminogruppe von Phenylalanin orientieren sich so, dass Wasserstoffbrücken zu Gly216 ausgebildet werden können und der Phenylrest bindet an die hydrophobe S3-Tasche.^[141] Somit kann zuerst mit einem Chlorbenzyl-Liganden eine Vielzahl von Verbindungen synthetisiert werden um die optimale Auswahl der Liganden um das Metallzentrum zu evaluieren. Nach Identifikation einer Leitstruktur könnte dann in einem weiteren Optimierungsschritt die Chlorbenzylgruppe gegen die Amidinogruppe ausgetauscht und ein sehr potenter Inhibitor erhalten werden.

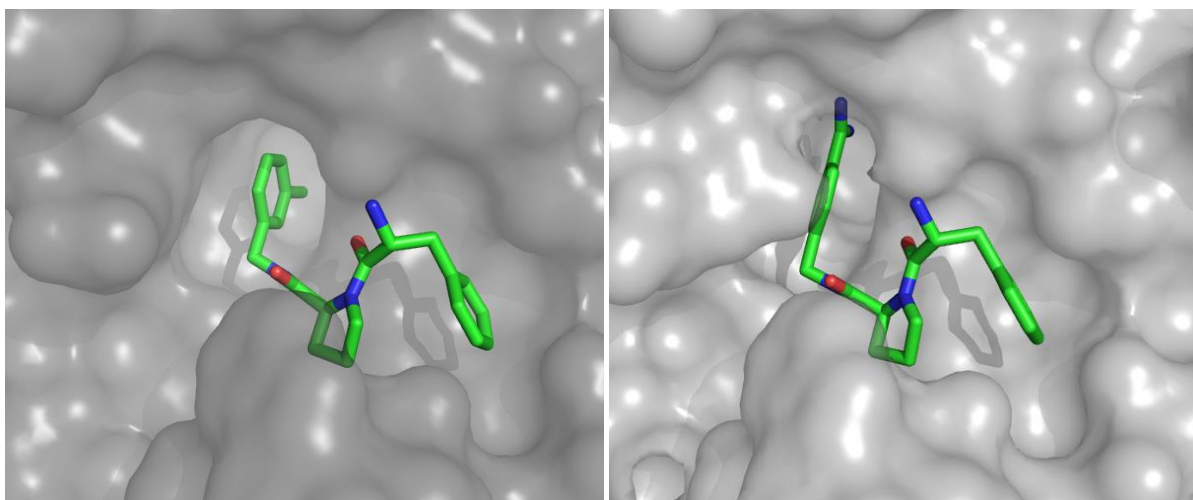


Abbildung 51: Darstellung des aktiven Zentrums von Thrombin. Links: Kokristallstruktur eines Chlorbenzyl-Inhibitors (PDB: 2ZC9). Rechts: Kokristallstruktur eines Amidin-Inhibitors (PDB: 2ZDA).

Wichtig für diese Herangehensweise ist die Möglichkeit sehr schnell eine Vielzahl von Liganden und damit eine Bibliothek von Metallkomplexen zu synthetisieren. Als zentrales Strukturmerkmal wurde bei diesen Inhibitoren die Triazoleinheit gewählt.^[142] Die Triazolgruppe kann je nach gewünschter Selektivität Kupfer-katalysiert (1,4-substituiert)^[143] oder unter Zugabe von Ethylmagnesiumbromid (1,5-substituiert) aufgebaut werden.^[144,145] Bei der Kupfer-katalysierten Variante wird ein Alkin **126** mit einem Azid **127** in Gegenwart von einer häufig *in situ* generierten Kupfer(I)-Spezies zum Triazolliganden **128** umgesetzt.

Diese Reaktionen erlauben dabei eine große Substratbreite und laufen mit hohen Ausbeuten ab.^[146] Des Weiteren sind Triazole in der Lage an Ruthenium zu koordinieren und stellen so den idealen Schlüsselbaustein für die Struktur-Aktivitäts-Beziehung eines organometallischen Inhibitors dar (Abbildung 52).

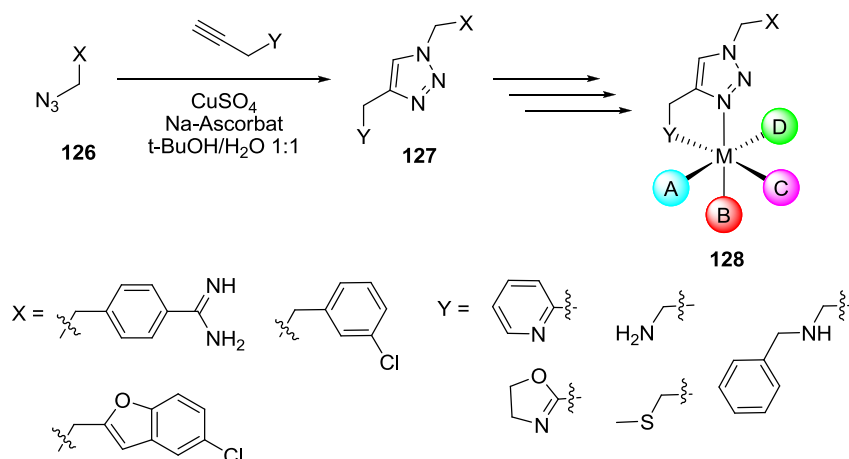


Abbildung 52: Synthese der Triazolgrundstruktur **127** und schematische Darstellung der Metallkomplexe **128** mit den verschiedenen Resten X und Y. A, B, C, D stellen verschiedene Liganden in einem oktaedrischen Komplex dar.

Als Gruppe Y sollte ein Pyridin-, ein Oxazolin-, ein Aminomethyl- und ein Methylthioether-Rest untersucht werden. Pyridin repräsentiert den sterisch anspruchsvollsten Rest und könnte gegen die Thrombinschleife stoßen. Der Oxazolinring dagegen ist etwas kleiner und sollte dieses Problem nicht zeigen. Neben einem Vergleich der polaren Aminomethylgruppe mit der unpolaren, aber sterisch anspruchsvolleren Methylthiomethylgruppe sollten quadratisch planare Platinkomplexe mit dem Aminomethyl-Rest und dem Aminomethylpyridyl-Rest hergestellt werden.

Die Chlorbenzyl-, Chlorbenzofuryl- und Benzamidingruppe wurden gewählt um unterschiedliche Bindungsmodi zu erhalten und damit verbunden die Orientierung des Metallfragmentes im aktiven Zentrum zu variieren. Die Benzamidingruppe sollte durch Ausbildung einer Salzbrücke zu Asp189 die höchste Affinität zeigen, aber wesentlich unselektiver als die Chlorbenzyl und Chlorbenzofuryl-Reste an Trypsin und Thrombin binden. Über den Benzyl-, bzw. Benzofuryl-Rest sollte die Entfernung und Orientierung des Metallzentrums in der S3-Tasche gesteuert werden und dabei eine möglichst günstige Positionierung in der Kationen-affinen Bindungsregion der S3-Tasche ermöglicht werden.

Somit werden verschiedene Bindungsmodi für die Liganden erwartet: Der Chlorbenzylkomplex sollte an Tyr228 binden und vorrangig die S2- und S3-Tasche mit seinen Liganden ausfüllen (Abbildung 53a). Der Benzamidinkomplex sollte an Asp189 binden und ebenfalls vorrangig die S2- und S3-Tasche ausfüllen (Abbildung 53b). Der Chlorbenzofurylligand sollte an Tyr228 binden, sich aber aufgrund der Länge des P1-Restes etwas anders orientieren. Der Ligand könnte sich an der Thrombinschleife vorbei in Richtung der S1'- und der S2'-Tasche ausrichten (Abbildung 53c). Außerdem könnte die Verwendung eines quadratisch-planaren Komplexes interessant sein, da der Komplex keine axialen Liganden besitzt, die an die Moleküloberfläche stoßen könnten. Prädestiniert für diese Komplexklasse wären so Platinkomplexe, die mit zwei hydrophoben Chloridoliganden ideal die S3-Tasche ausfüllen könnten (Abbildung 53d).

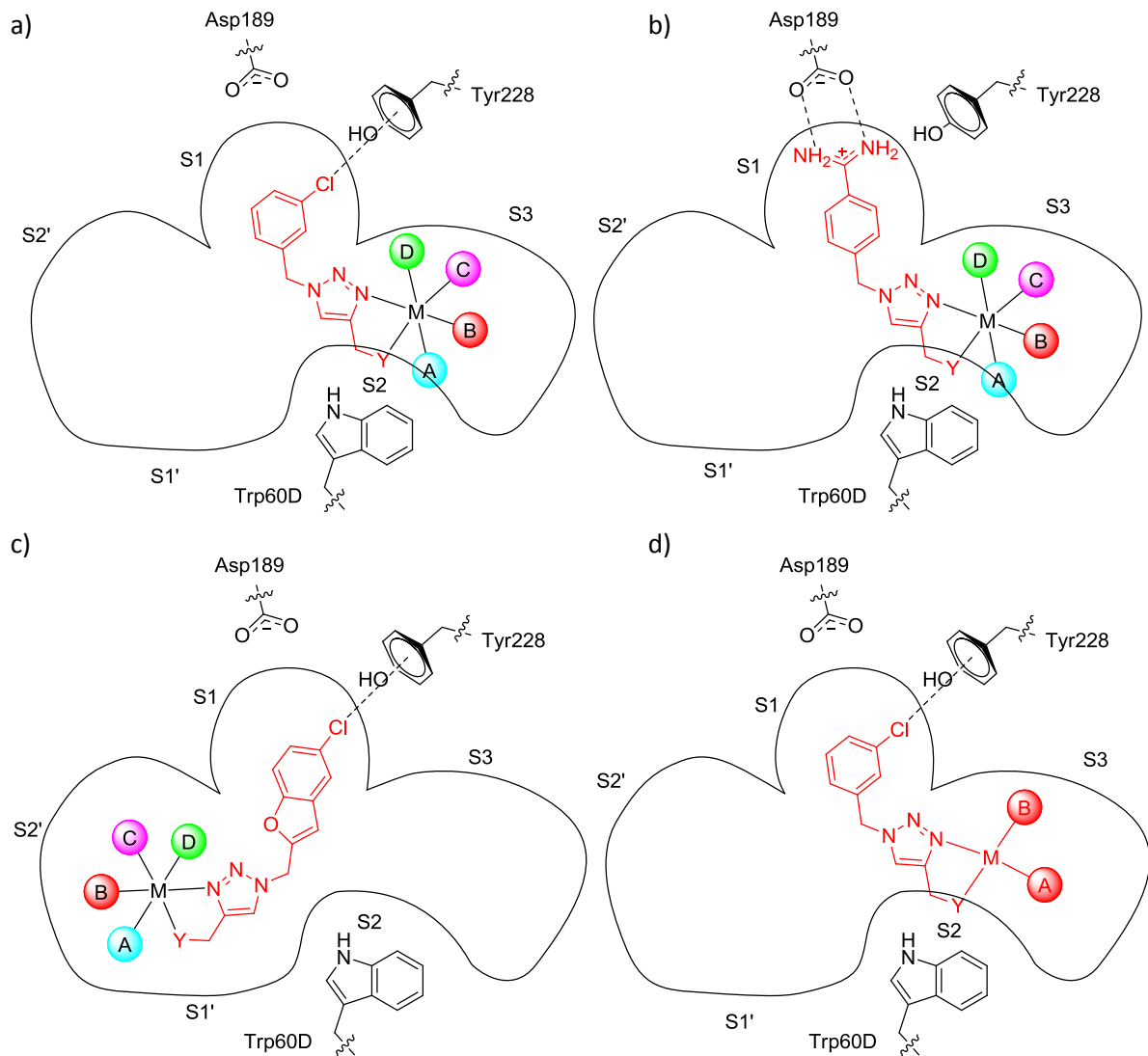
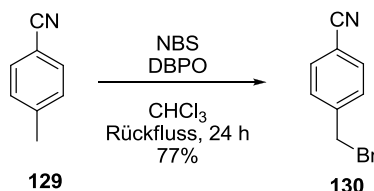


Abbildung 53: Vermutete Bindungsmodi der verschiedenen Thrombininhibitoren im aktiven Zentrum. a) Der Chlorbenzylrest bindet an Tyr228 und die Liganden werden vorrangig in der S3-Tasche positioniert. b) Die Amidgruppe bindet an Asp189 und die Liganden werden vorrangig in der S3-Tasche positioniert. c) Der Chlorbenzylrest wird aufgrund seiner Länge die Liganden in den S'-Taschen positionieren. d) Ein quadratisch-planarer Komplex sollte an die S-Taschen binden.

3.5.2 Synthese der Liganden

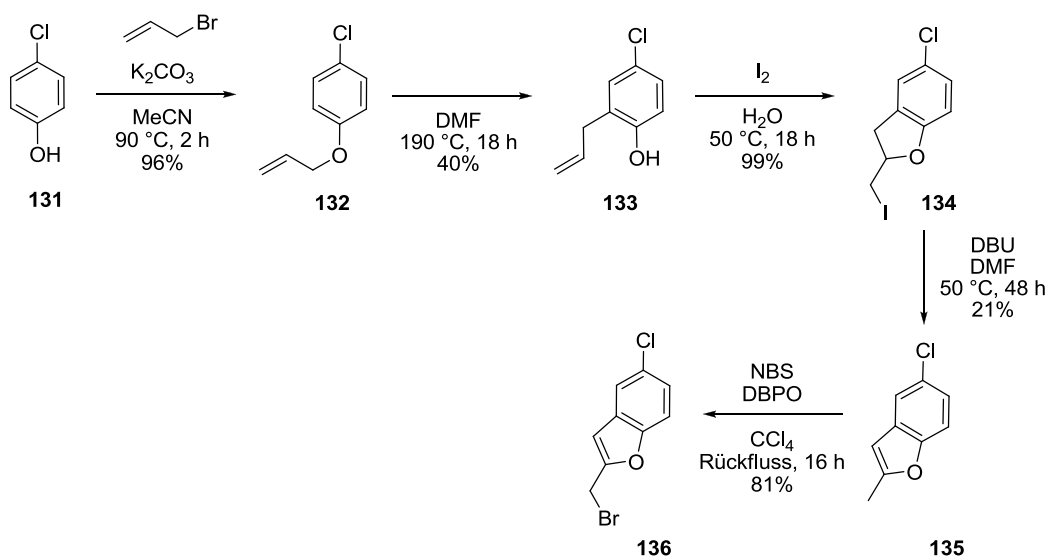
Synthese der Azid- und Ethinbausteine

4-(Brommethyl)-benzonitril **130** wurde ausgehend von 4-Tolunitril **129** nach einer modifizierten Literaturvorschrift hergestellt.^[147] Verbindung **129** wurde in Chloroform mit *N*-Bromsuccinimid und Dibenzoylperoxid umgesetzt und das Produkt in 77% Ausbeute erhalten (Schema 48).



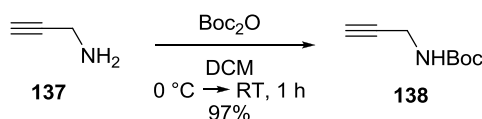
Schema 48: Synthese von 4-(Brommethyl)-benzonitril **130** ausgehend von 4-(Brommethyl)-benzonitril **129**.

Der Chlorbenzofurylbaustein wurde nach literaturbekannten Vorschriften aus 4-Chlorphenol **131** hergestellt. Die OH-Funktion wurde in 96% Ausbeute mit Allylbromid zu Verbindung **132** geschützt.^[148] Durch Erhitzen in *N,N*-Dimethylformamid auf 190 °C unter Verwendung eines Überdruckgefäßes wurde in einer CLAISEN-Umlagerung das Produkt **133** in 40% Ausbeute gebildet.^[149] Die Cyclisierungsreaktion erfolge in Wasser unter Zugabe von Iod zu 5-Chlor-2-(iodmethyl)-2,3-dihydrobenzofuran **134** in quantitativer Ausbeute.^[149] In *N,N*-Dimethylformamid mit DBU als nicht nukleophile Base wurde unter Ausbildung der Doppelbindung Iod eliminiert und 5-Chlor-2-methylbenzofuran **135** in 21% Ausbeute erhalten.^[149] 5-Chlor-2-methylbenzofuran wurde mit *N*-Bromsuccinimid bromiert, wobei die Wahl des Lösungsmittels eine entscheidende Rolle spielte. Chloroform führte zu Nebenreaktionen und so musste das toxische Tetrachlormethan verwendet werden um 2-(Brommethyl)-5-chlorbenzofuran **136** in 81% Ausbeute zu erhalten (Schema 49).^[150]



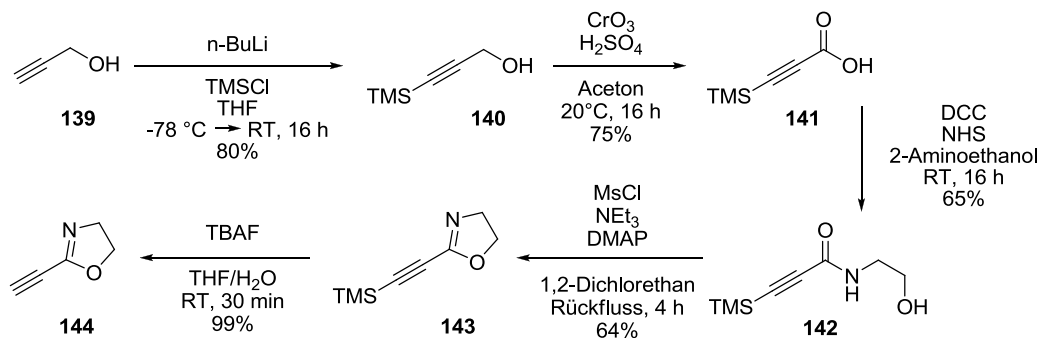
Schema 49: Synthese des Benzofurylbausteins **136** ausgehend von 4-Chlorphenol **131** in einer fünfstufigen Reaktionssequenz.

Des Weiteren wurde Propargylamin **137** mit einer *tert*-Butylcarbamat-Schutzgruppe versehen. Dazu wurde nach einer literaturbekannten Vorschrift das Amin in Dichlormethan mit Di-*tert*-butylcarbonat umgesetzt und *tert*-Butyl-prop-2-ynylcarbamat **138** in 97% Ausbeute erhalten (Schema 50).^[151]



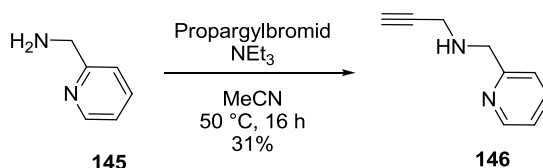
Schema 50: Synthese von *tert*-Butyl-prop-2-ynylcarbamat **138**.

Der Oxazolinbaustein wurde ebenfalls nach einer literaturbekannten Synthese hergestellt. Als Startpunkt der Synthese diente Prop-2-in-1-ol **129**, das mit *n*-BuLi und Trimethylsilylchlorid in Verbindung **140** in 80% Ausbeute überführt wurde.^[152] Im nächsten Schritt wurde die Alkoholfunktion durch eine Jones-Oxidation in 76% Ausbeute zur entsprechenden Carbonsäure **141** oxidiert.^[153,154] Die Carbonsäure konnte nun mit *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid und *N*-Hydroxysuccinimid in Tetrahydrofuran aktiviert und mit 2-Aminoethanol zu *N*-(2-Hydroxyethyl)-3-(trimethylsilyl)propiolamid **142** in 65% Ausbeute umgesetzt werden. Bei dieser Reaktion war die Wahl des Aktivesters besonders wichtig, da bei zu hoher Reaktivität der aktivierten Carbonsäure Nebenprodukte wie Ester oder Dimere entstehen können.^[154,155] Der Ringschluss erfolgte nach Deprotonierung des Alkohols durch Reaktion mit Methansulfonylchlorid und katalytischen Mengen 4-*N,N'*-Dimethylaminopyridin zu 2-((Trimethylsilyl)ethinyloxazolin **143** mit einer Ausbeute von 64%. Im letzten Schritt wurde die Trimethylsilylgruppe quantitativ durch Tetrabutylammoniumfluorid entfernt und 2-Ethinyloxazolin **144** erhalten (Schema 51).^[156]



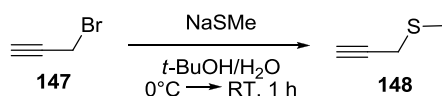
Schema 51: Synthese von 2-Ethinyloxazolin **144** ausgehend von Prop-2-in-1-ol **139** in einer fünfstufigen Reaktionssequenz.

N-(Pyridin-2-ylmethyl)prop-2-in-1-amin **146** wurde ausgehend von Aminomethylpyridin **145** synthetisiert.^[157] Dabei wurde **145** mit Propargylbromid in Acetonitril umgesetzt. Das gewünschte Produkt *N*-(Pyridin-2-ylmethyl)prop-2-in-1-amin **146** wurde in 31% Ausbeute erhalten (Schema 52).



Schema 52: Synthese von *N*-(Pyridin-2-ylmethyl)prop-2-in-1-amin **146**.

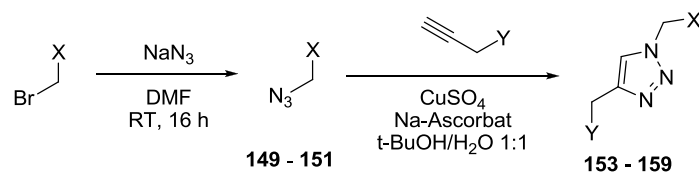
Methyl(prop-2-ynyl)sulfan **147** wurde *in situ* hergestellt und ohne Reinigung für die [3+2]-Cycloadditionen verwendet. Natriummethylthiolat wurde ähnlich einer bekannten Vorschrift in einem Gemisch aus Wasser und *tert*-Butanol mit Propargylbromid **148** umgesetzt (Schema 53).^[158]



Schema 53: Synthese von Methyl(prop-2-ynyl)sulfan **148**.

Synthese der Triazolliganden durch [3+2]-Cycloadditionen

Die Bromide wurden zu den Aziden **149** - **151** umgesetzt und nach Extraktion ohne weitere Reinigung verwendet. Anschließend wurde eine Kupfer(I)-katalysierte [3+2]-Cycloaddition zu den 1,4-substituierten Triazolliganden **153** - **159** durchgeführt. In Schema 54 sind die Reaktionsbedingungen aufgeführt und in Tabelle 5 die synthetisierten Liganden gezeigt. 1-(Brommethyl)-3-chlorbenzol **149** und 2-Ethynylpyridin **152** wurden kommerziell erworben. Die Liganden aus den [3+2]-Cycloadditionen konnten in Ausbeuten zwischen 32% und 94% erhalten werden. Ligand **156** konnte allerdings nicht vollständig sauber isoliert werden. Für die Verbindungen **155** und **159** war vor Synthese der Metallkomplexe noch eine weitere Umsetzung nötig.


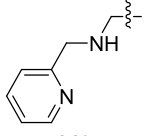
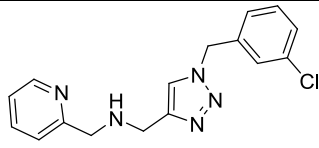
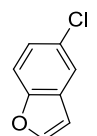

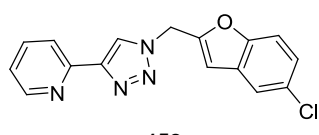
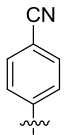

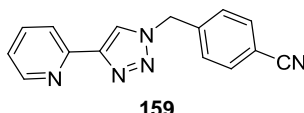


Schema 54: Schematische Darstellung der Synthese der Triazolliganden **153** - **159** ausgehend von den Aziden **149** - **151**.

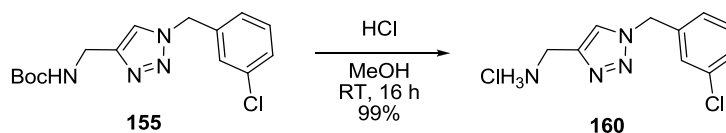
Tabelle 5: Synthese der verschiedenen Triazolliganden **153** - **159**.

X	Y	Ligand	Ausbeute
149	152	153	40%
149	144	154	32%
149	138	155	39%
149	148	156	94%

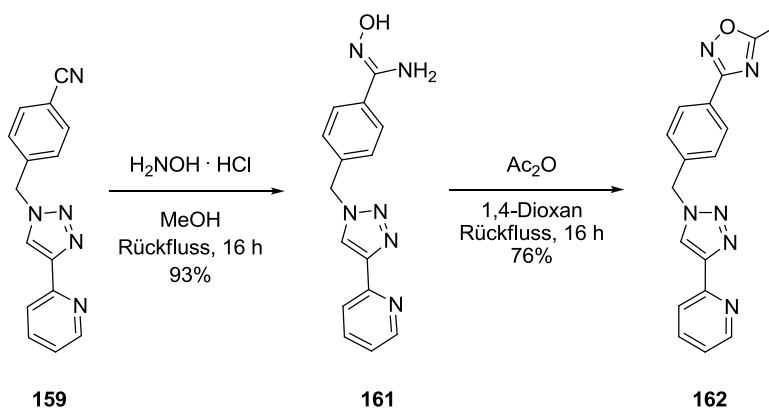
Tabelle 5: Synthese der verschiedenen Triazolliganden **153 – 159** (Fortsetzung).

X	Y	Ligand	Ausbeute
 149	 146	 157	83%
 150	 152	 158	50%
 151	 152	 159	65%

Von Ligand **155** wurde die Schutzgruppe durch Reaktion mit HCl in Methanol (2 mol/L) entfernt und das Hydrochlorid **160** in quantitativer Ausbeute erhalten (Schema 55).

**Schema 55:** Abspaltung der Schutzgruppe zum finalen Aminomethyliganden **160**.

Benzonitril **159** wurde durch Reaktion in Methanol mit Hydroxylamin-Hydrochlorid in das entsprechende Oxim **161** in 93% Ausbeute überführt. Anschließend wurde das Oxim durch Reaktion mit Essigsäureanhydrid in 1,4-Dioxan aktiviert. Verbindung **162** wurde in 76% Ausbeute erhalten (Schema 56).

**Schema 56:** Synthese des aktivierten Oxims **162** ausgehend von Nitril **159** in einer zweistufigen Reaktionssequenz.

Das ¹H-NMR-Spektrum des Triazolliganden ist in Abbildung 54 dargestellt. Auch hier sind die NH₂-Protonen sowie das Oxim-Proton nicht mehr zu sehen.

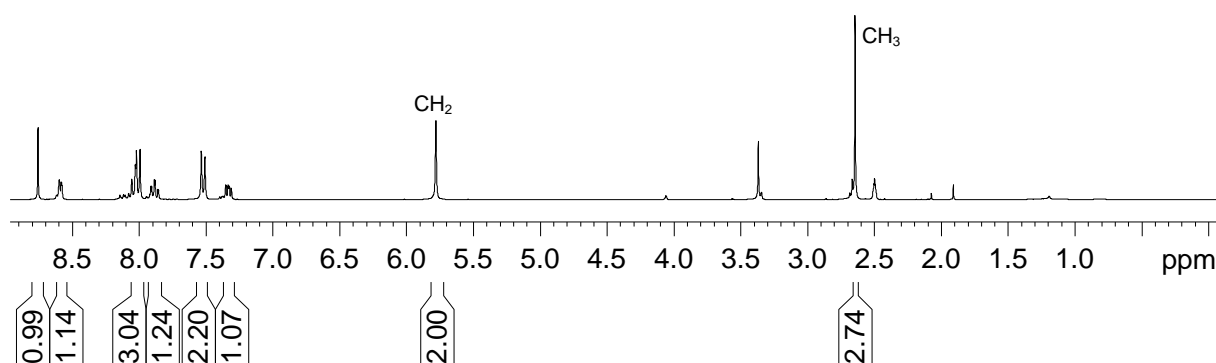
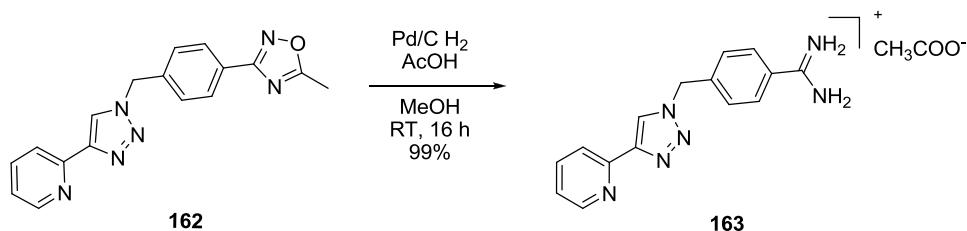


Abbildung 54: ^1H -NMR Spektrum von Verbindung **162**.

Die Reduktion des Oxims erfolgte in einem Gemisch aus Methanol und Essigsäure (10:1) unter Palladiumkatalyse bei Wasserstoffatmosphäre. Die Amidinverbindung **163** wurde dabei in quantitativer Ausbeute erhalten.



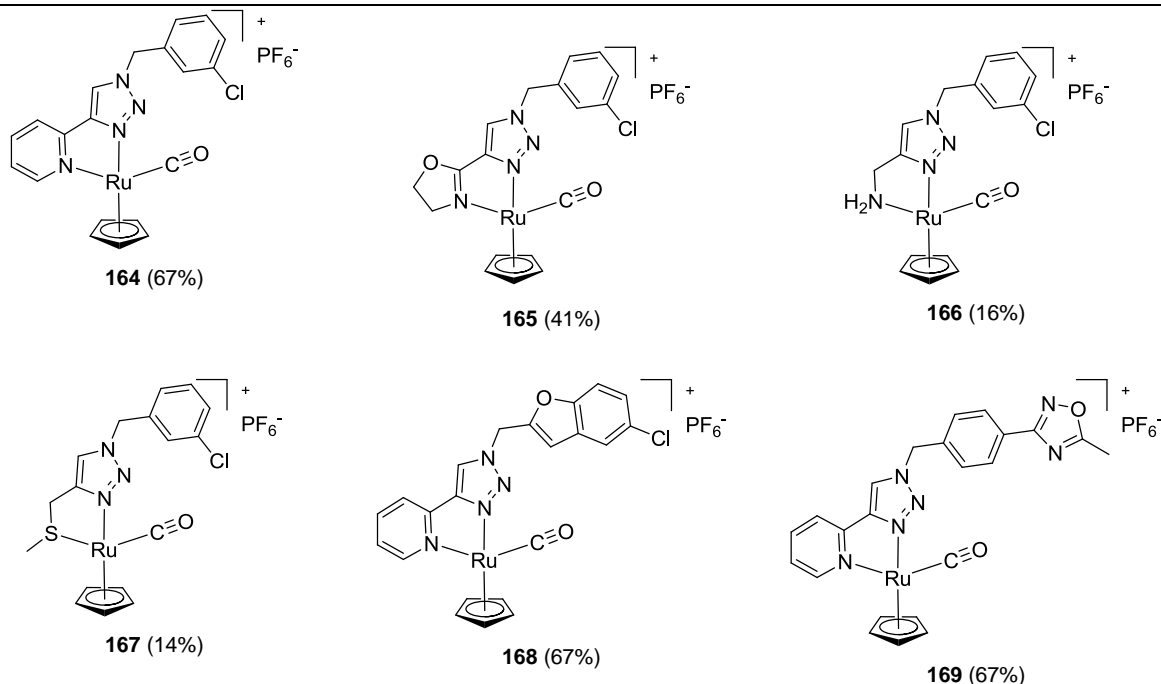
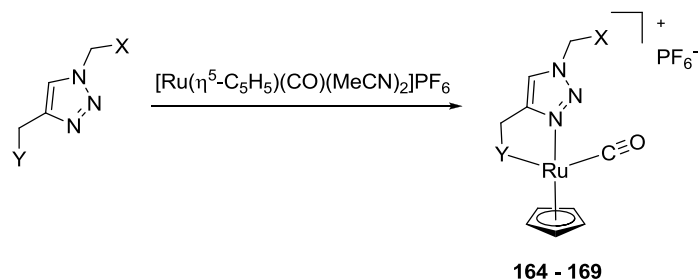
Schema 57: Synthese des Amidins **163** durch Reduktion des aktivierten Oxims **162**.

Nachdem nun insgesamt sieben Liganden synthetisiert wurden, sollten verschiedene pseudooktaedrische Halbsandwich-, sowie oktaedrische Komplexe mit diesen Liganden hergestellt werden. Liganden **157** und **160** sollten zudem zu quadratisch-planaren Platinkomplexen umgesetzt werden.

3.5.3 Synthese der Metallkomplexe

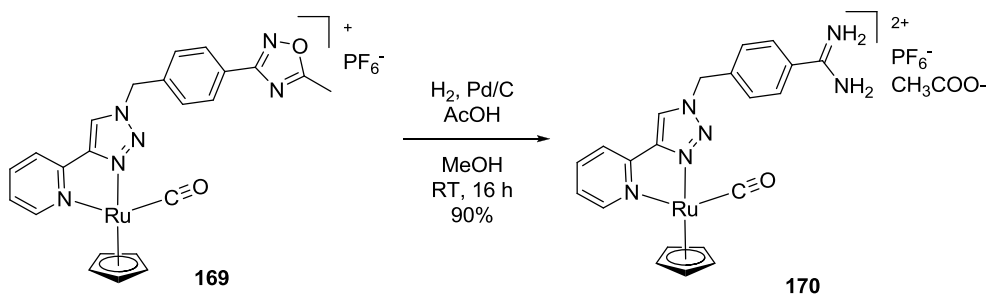
Synthese pseudooktaedrischer Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplexe

Die synthetisierten Liganden wurden nun mit verschiedenen Vorläufern zu den entsprechenden Metallkomplexen umgesetzt. Zuerst wurden pseudooktaedrische Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplexe hergestellt (Schema 58). Der kleine Cyclopentadienylligand sollte in der Lage sein die S3-Tasche von Thrombin zu besetzen und der C-O-Ligand sollte Wasserstoffbrücken zu den Aminosäuren des Proteinrückgrates ausbilden können.



Schema 58: Synthese der Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplexe **164** –**169**. Die gewählten Reaktionsbedingungen sind dem Experimentalteil sowie dem Tabellenanhang zu entnehmen.

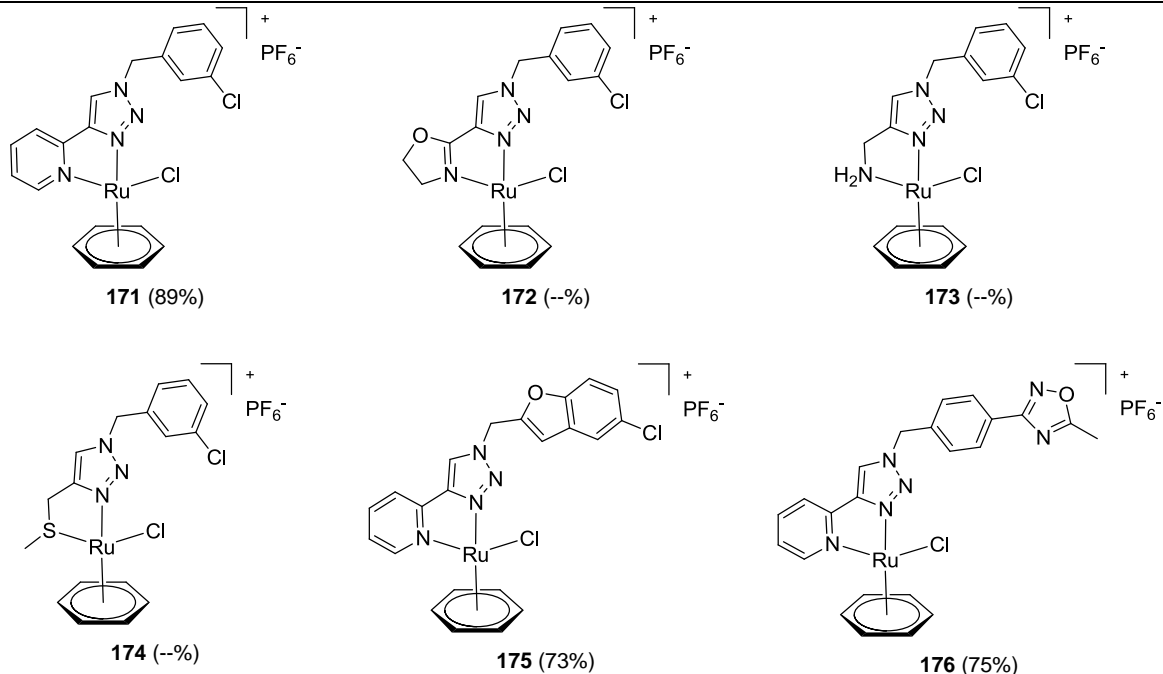
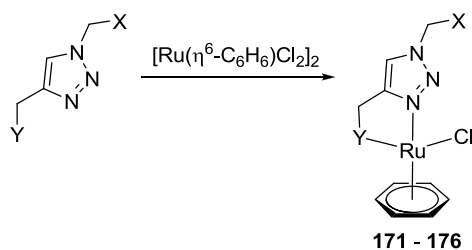
Insgesamt wurden sechs monokationische Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplexe in Ausbeuten zwischen 14% und 67% erhalten. Komplex **169** wurde anschließend zum Amidin reduziert und in 90% Ausbeute erhalten (**170**, Schema 59).



Schema 59: Reduktion des Oxims **169** zum Amidin **170**.

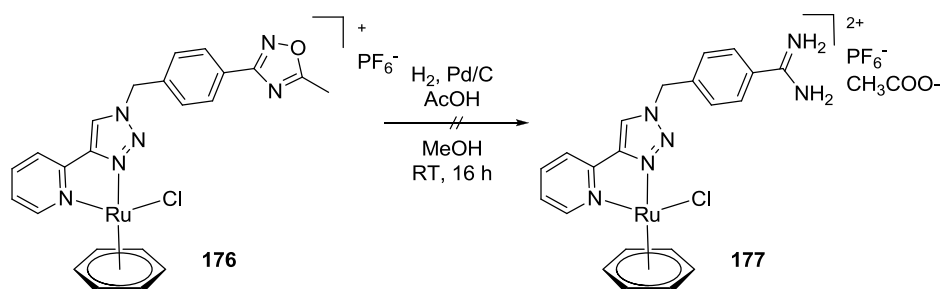
Synthese pseudooktaedrischer Benzol-Halbsandwichkomplexe

Als nächstes wurden pseudooktaedrische Halbsandwichkomplexe mit einem Benzolliganden hergestellt. Dazu wurden die Liganden mit dem $[\text{Ru}(\eta^6\text{-C}_6\text{H}_6)\text{Cl}_2]_2$ Vorläufer umgesetzt (Schema 60). Die synthetisierten Komplexe sollten weniger stark binden, da zum einen der Benzolligand sterisch etwas anspruchsvoller ist und der Chlorido-Ligand keine Wasserstoffbrücken ausbilden kann.



Schema 60: Synthese der Benzol-Halbsandwichkomplexe **171** – **176**. Die gewählten Reaktionsbedingungen sind dem Experimentaltteil sowie dem Tabellenanhang zu entnehmen.

Die Benzol-Halbsandwichkomplexe wurden in Ausbeuten zwischen 73% und 89% hergestellt. Als Lösungsmittel wurde bei den Reaktionen ein Gemisch aus Methanol und Acetonitril verwendet. Die Synthese des Oxazolin-, des Aminomethyl- und des Methylthioetherkomplexes (**172**, **173**, **174**) war allerdings nicht erfolgreich. Hier war kein Umsatz zum Produkt festzustellen. Auch die Reduktion des Oximkomplexes war nicht erfolgreich (Schema 61), da sich der Komplex zersetzte.

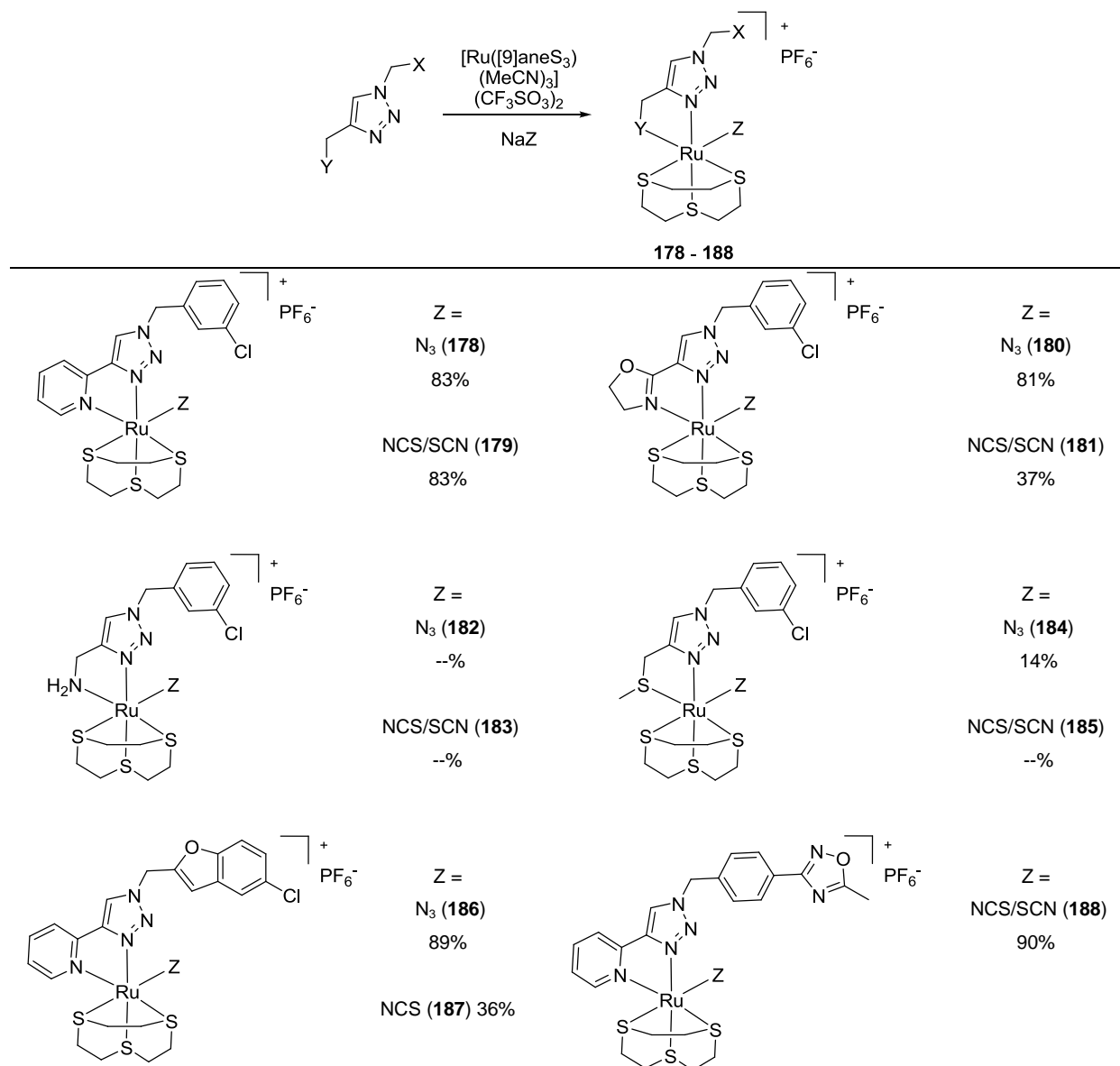


Schema 61: Versuchte Reduktion des Oxims **176** zum Amidin **177**.

Synthese oktaedrischer 1,4,7-Trithiacyclononankomplexe

Die Liganden wurden mit dem oktaedrisch koordinierten $[\text{Ru}(\text{[9]aneS}_3)(\text{MeCN})_3](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ Vorläufer zu den entsprechenden Komplexen umgesetzt. Dabei konnte in fast allen Fällen der intermediär

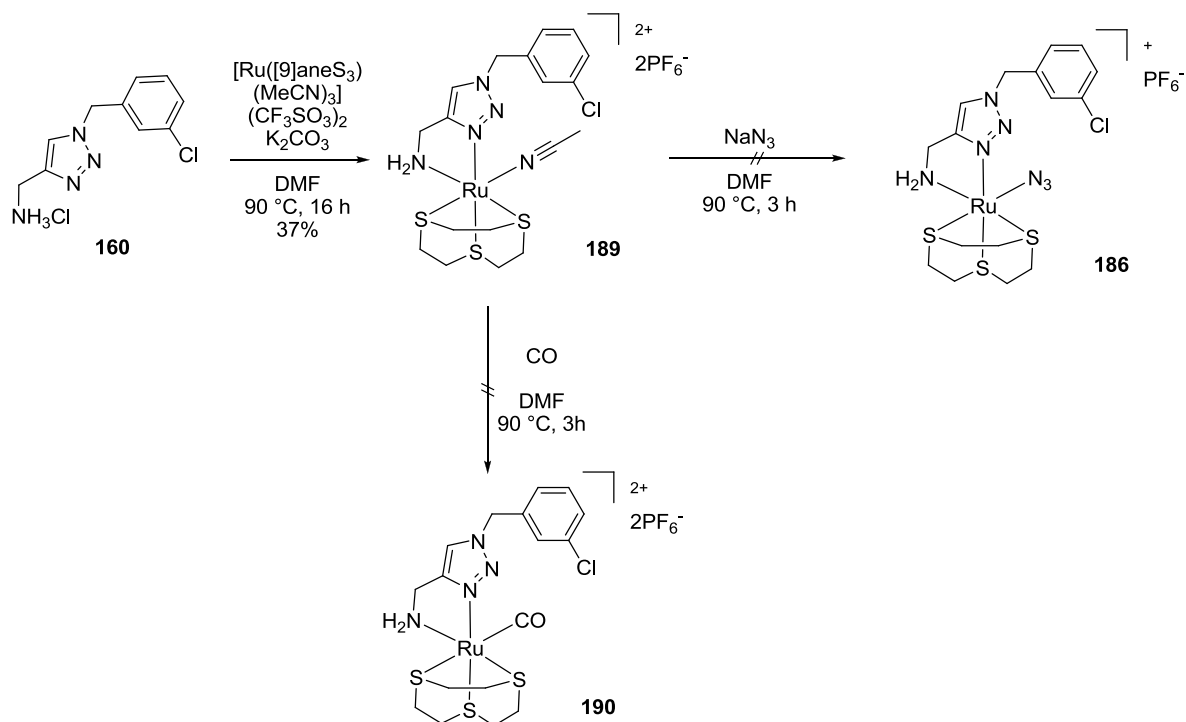
gebildete Monoacetonitrilkomplex nicht isoliert werden. Dieser wurde *in situ* mit einzähligen Liganden umgesetzt (Schema 43). Der hydrophobe 1,4,7-Trithiacyclononanligand sollte die ebenfalls hydrophobe S3-Tasche ausfüllen können und über die Wahl des einzähligen Liganden sollten Wasserstoffbrücken zum Proteinrückgrat möglich sein.



Schema 43: Synthese der oktaedrischen Trithiacyclononankomplexe **178** – **188**. Die gewählten Reaktionsbedingungen sind dem Experimentalteil sowie dem Tabellenanhang zu entnehmen.

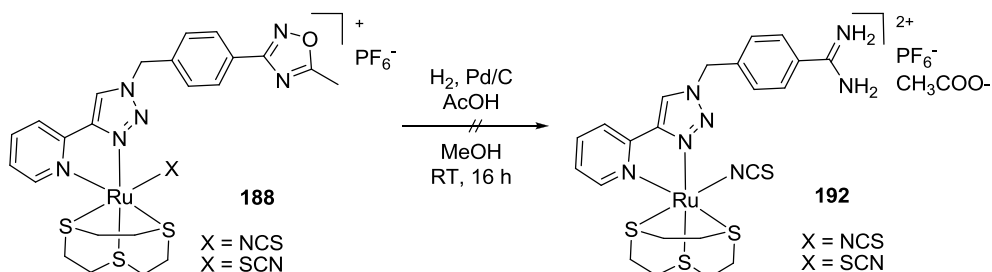
Die oktaedrischen 1,4,7-Trithiacyclononankomplexe **178** - **188** wurden in DMF in Ausbeuten zwischen 37% und 90% erhalten. In der Regel wurde mit Thiocyanat als einzähligen Liganden ein Gemisch aus dem *N*-gebundenem und dem *S*-gebundenem Isomer erhalten, die nicht voneinander getrennt werden konnten. Bei Verbindung **187** wurde jedoch nur ein Isomer erhalten. Als Hauptprodukt wird in allen Fällen das *N*-gebundene Isomer angenommen. Verschiedene Studien zeigten die Bevorzugung dieses Isomers seitens Rutheniums, des Weiteren deuteten die Verschiebungen im ¹³C-NMR Spektrum auf diese Verteilung der Isomere hin. Komplex **184** wurde aufgrund der 78

unterschiedlich ausgerichteten Methylgruppe als Gemisch zweier Diastereomer erhalten, die ebenfalls nicht voneinander getrennt werden konnten. Der Aminomethyltriazolligand **160** ließ sich zwar erfolgreich zum Monoacetonitrilkomplex **189** umsetzen und dieser konnte sauber isoliert werden. Jedoch führten Versuche den einzähligen Liganden auszutauschen zur Zersetzung des Komplexes. (Schema 62). Der Acetonitrilkomplex konnte weder mit Natriumazid (**186**), noch mit CO-Gas umgesetzt werden (**190**).



Schema 62: Versuchter Austausch des einzähligen Acetonitrilliganden zu den Komplexen **186** und **190**.

Der Thiocyanatokomplex **185** konnte nicht vollständig sauber isoliert werden und der Oximligand **162** wurde zuerst nur zum Thiocyanatokomplex **188** umgesetzt. Anschließend wurde die Reduktion des Oxims zum Amidin **192** durchgeführt. Allerdings konnte das gewünschte Produkt nicht erhalten werden (Schema 63).

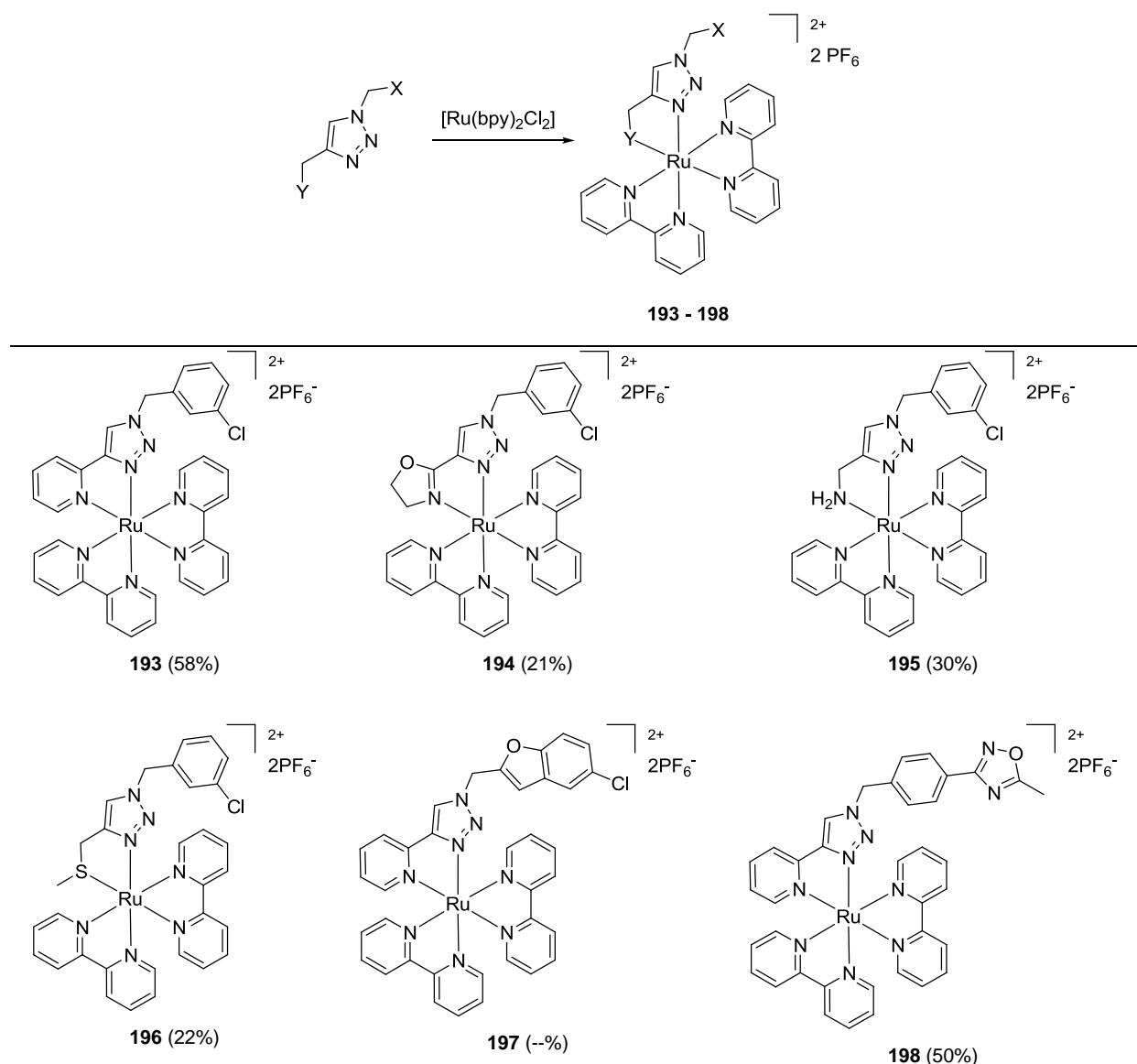


Schema 63: Versuchte Reduktion des Oxims **188** zum Amidin **192**.

Es wurde analog zum Indazolligand nur Edukt erhalten. Daher wurde auf die Synthese weiterer 1,4,7-Trithiacyclononankomplexe mit diesem Liganden verzichtet.

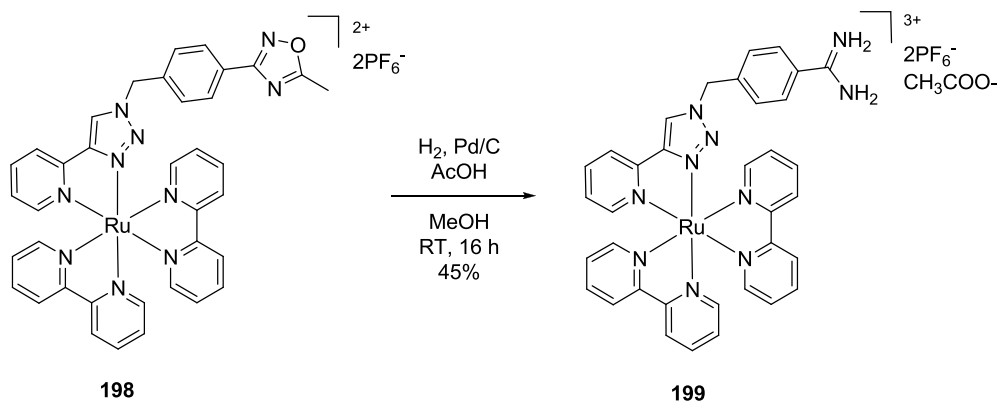
Synthese oktaedrischer Bipyridinkomplexe

Die Triazoliliganden wurden zur Synthese oktaedrischer Bipyridinkomplexe mit dem etablierten $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{Cl}_2]$ -Vorläufer umgesetzt (Schema 63). Bei diesen Komplexen ist aufgrund des sterischen Anspruchs der Liganden keine Inhibition zu erwarten. Die Ergebnisse sollten aber Rückschlüsse auf den Bindungsmodus geben.



Schema 64: Synthese der oktaedrischen Bipyridinkomplexe **193** – **198**. Die gewählten Reaktionsbedingungen sind dem Anhang zu entnehmen.

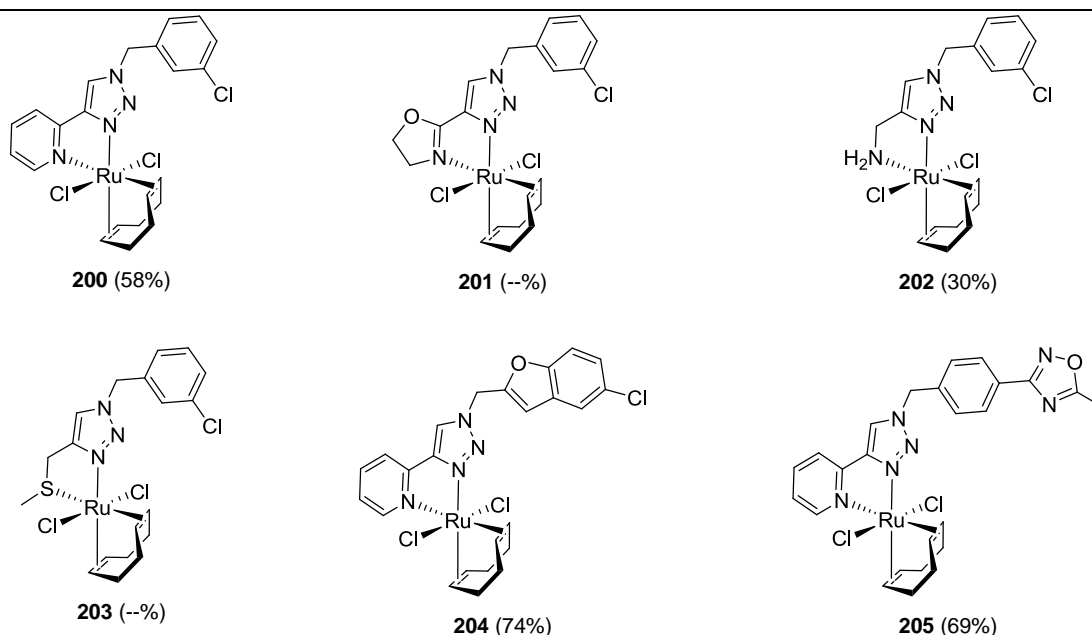
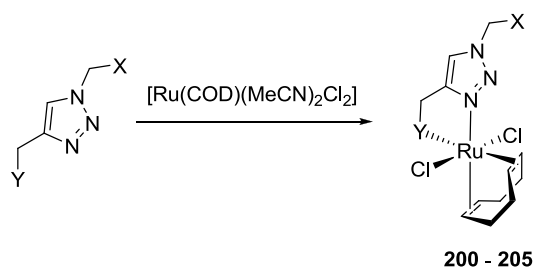
Die Bipyridinkomplexe wurden durch Reaktion in Ethanol in Ausbeuten zwischen 30% und 63% erhalten. Verbindung **197** konnte nicht sauber isoliert werden, Komplex **198** wurde anschließend zum Amidin reduziert. Dazu wurde der Oximkomplex in Methanol mit Essigsäure und Pd/C als Katalysator unter Wasserstoffatmosphäre umgesetzt (Schema 65). Der gewünschte Komplex konnte in Ausbeute von 45% isoliert werden.



Schema 65: Reduktion des Oxims **198** zum Amidin **199**.

Synthese oktaedrischer Cyclooctadienkomplexe

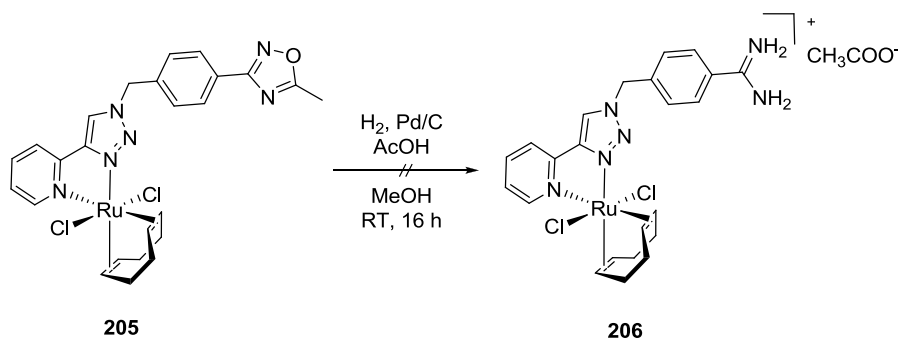
Als letzter Vertreter oktaedrischer Komplexe wurden die Liganden mit dem *trans*-[Ru(COD)(MeCN)₂Cl₂] Vorläufer umgesetzt (Schema 66). Der kleine COD-Ligand sollte die S3-Tasche ausfüllen, wobei die Chloridoliganden ebenfalls hydrophobe Wechselwirkungen ausbilden sollten.



Schema 66: Synthese der oktaedrischen Trithia-cyclooctadienkomplexe **200** – **205**. Die gewählten Reaktionsbedingungen sind dem Experimentalteil sowie dem Tabellenanhang zu entnehmen.

Die oktaedrischen COD-Komplexe konnten in Ausbeuten zwischen 30 und 74% erhalten werden. Der Oxazolinligand ließ sich allerdings nicht zum gewünschten Produkt umsetzen. Die beiden Chlorido-

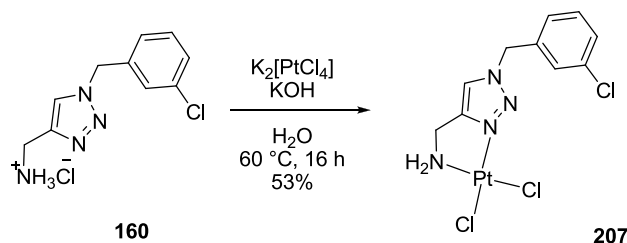
Liganden der Verbindungen sind jeweils transständig zueinander, da zum einen der $\text{trans-[Ru(COD)(MeCN)}_2\text{Cl}_2\text{]}$ -Vorläufer verwendet wurde und zum anderen die Methylenheiten des COD-Liganden im $^1\text{H-NMR}$ Spektrum zwei Signale lieferten. Daher müssen jeweils zwei Methylenheiten äquivalent sein, was nur im *trans*-koordiniertem Komplex möglich ist.^[159] Anschließend wurde die Reduktion des Oxims **205** zum Amidin **206** durchgeführt. Allerdings konnte das gewünschte Produkt nicht erhalten werden (Schema 67).



Schema 67: Reduktion des Oxims **205** zum Amidin **206**.

Synthese quadratisch-planarer Platinkomplexe

Unter Verwendung des Liganden **160** sollte nach einer modifizierten Literaturvorschrift durch Reaktion in Wasser mit dem kommerziell erhältlichen $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$ ein quadratisch-planarer Platinkomplex hergestellt werden.^[158,160] Der Komplex wurde in 53% Ausbeute erhalten (Schema 68).



Schema 68: Umsetzung des Liganden **160** zum quadratisch-planaren Platinkomplex **207**.

Der Komplex **207** war allerdings nicht stabil in DMSO. Bereits nach kurzer Zeit konnte im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum besonders anhand des Triazol-Protons Zersetzung beobachtet werden (Abbildung 55).

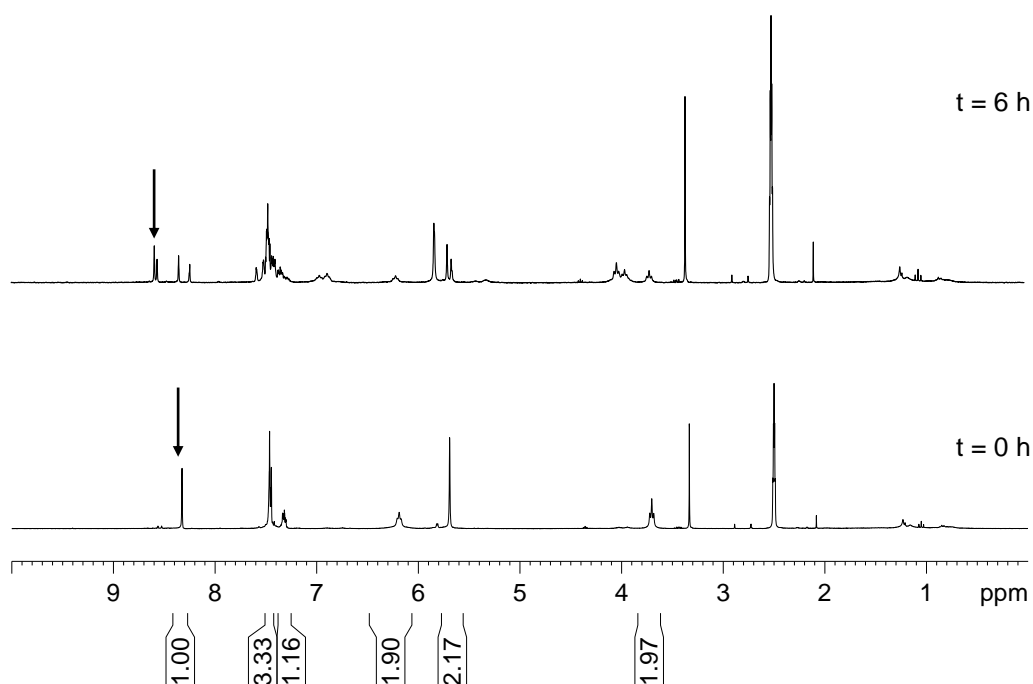


Abbildung 55: ^1H -NMR-Spektrum des instabilen Komplexes **207**. Die Triazol-Protonen sind hervorgehoben.

Die massenspektrometrische Analyse des Komplexgemisches identifizierte **208** als eines der gebildeten Produkte (Abbildung 56). Vermutlich greift DMSO an einer der nicht besetzten axialen Positionen an und substituiert in einem assoziativen Mechanismus einen oder beide Chloridoliganden. Da Komplex **208** nicht ausreichend stabil war, wurde auf weitere Studien verzichtet.

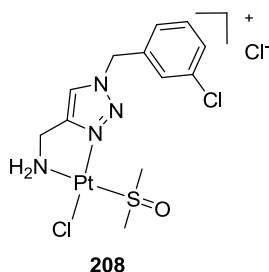
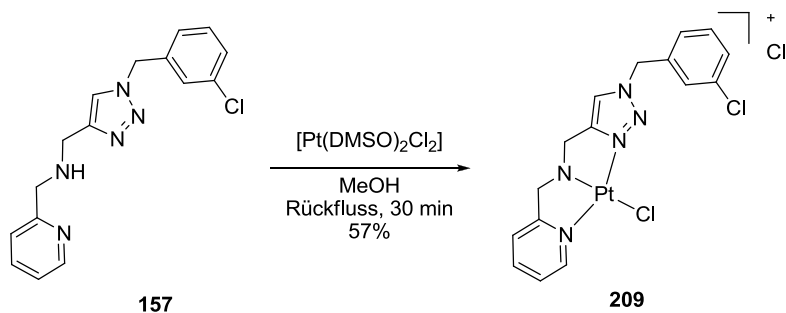


Abbildung 56: Durch Massenspektrometrie identifiziertes Produkt **208**.

Des Weiteren wurde Ligand **157** mit dem literaturbekannten Vorläufer $[\text{Pt}(\text{DMSO})_2\text{Cl}_2]$ ^[161] in Methanol zum kationischen Platinkomplex **209** in 57% Ausbeute umgesetzt (Schema 69).



Schema 69: Synthese des quadratisch-planaren Platinkomplexes **209**.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass über [3+2]-Cycloadditionen eine Vielzahl von Liganden sehr leicht zugänglich war. Als Baukastensystem zur schnellen Synthese strukturell unterschiedlicher Liganden ist dieser Ansatz sehr gut geeignet. Durch die entsprechende Wahl eines Azids ohne Methyleinheit kann die konformelle Freiheit noch weiter eingeschränkt werden, so dass entropische Verluste beim Binden an das Enzym weiter minimiert werden können. Bei den hier untersuchten Enzymen Thrombin und Trypsin sollte die Flexibilität jedoch von Vorteil sein, da Serinproteasen selbst sehr starre Enzyme sind und sterische Wechselwirkungen die Potenz des Inhibitors senken. Die gebildete Triazoleinheit war in der Lage als Ligand an Ruthenium oder an Platin zu koordinieren und es konnte eine Bibliothek von 27 stabilen Komplexen in moderaten bis hohen Ausbeuten isoliert werden. Die Reduktion des Oxims dagegen erwies sich bei vielen Verbindungen als schwierig. Lediglich der stabile Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplex **169**, sowie der stabile Bipyridinkomplex **198** konnten reduziert werden. Somit muss auch weiterhin eine geeignete Amidinschutzgruppe gesucht werden, die es ermöglicht die Amidinfunktion als letzten Schritt nach der Komplexbildungsreaktion freizusetzen. Verglichen mit den Komplexsynthesen der kationischen Liganden aus den vorangegangenen Kapiteln zeigt sich bei der Verwendung neutraler Liganden eine höhere Ausbeute und zudem eine leichtere Handhabung der Verbindungen. Die Komplexe ließen sich wesentlich einfacher säulenchromatographisch reinigen, solange die basische Amidgruppe geschützt war.

3.5.4 Untersuchung der biologischen Aktivität

Bestimmung der Restaktivität von Thrombin bei einer Inhibitor-Konzentration von 100 µmol/L

Die sieben verschiedenen Liganden wurden verwendet um 27 Metallkomplexe zu synthetisieren. Aus den Liganden und Metallkomplexen ergab sich eine Gesamtzahl von 34 potentiell bioaktiven Verbindungen. Zuerst wurde die Restaktivität von Thrombin bei Inhibitor-Konzentrationen von 100 µmol/L und 1 µmol/L bestimmt. Die Messergebnisse der Liganden sind in Abbildung 57 aufgetragen. Auf eine Untersuchung von Ligand **156** wurde verzichtet, da dieser nicht vollständig sauber isoliert werden konnte.

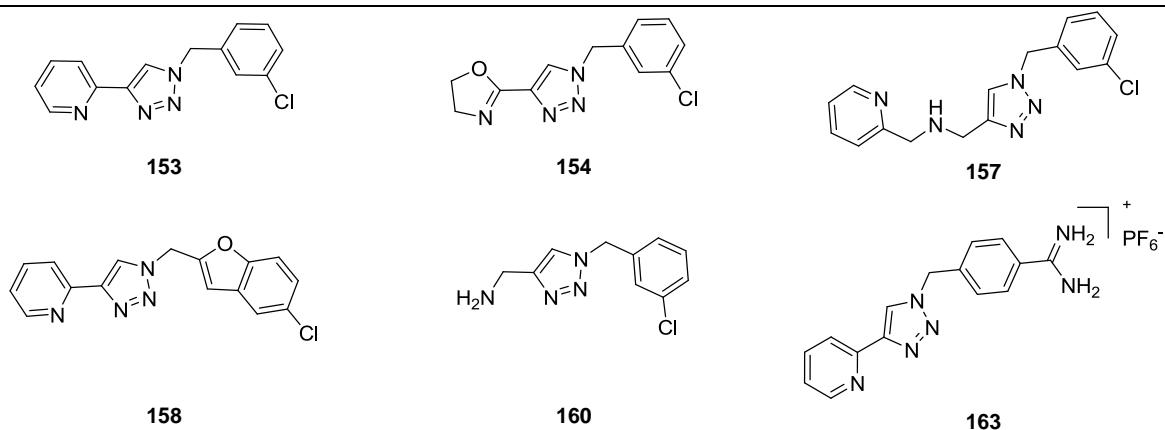
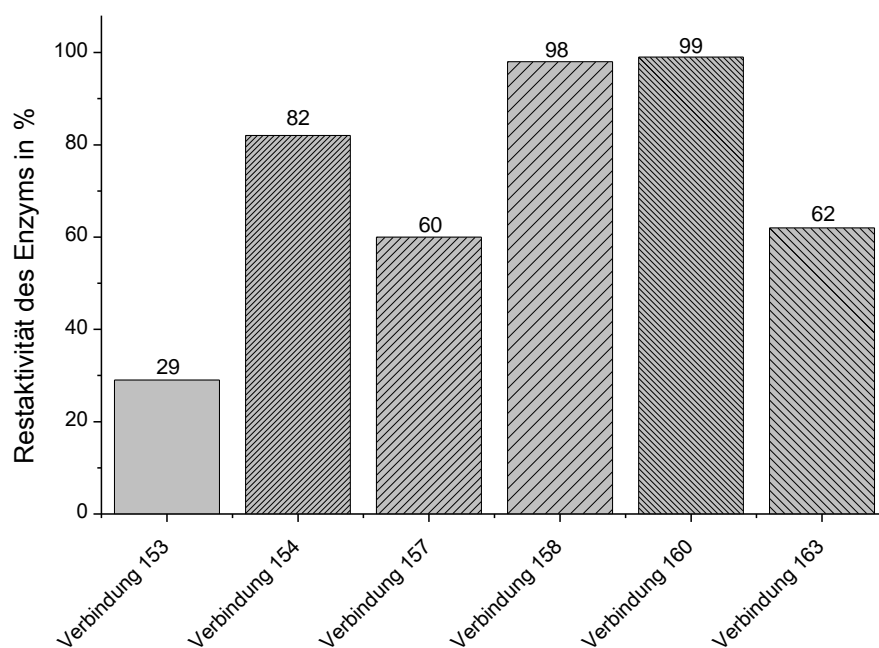


Abbildung 57: Messung der Enzymrestaktivität von Thrombin bei einer Inhibitorkonzentration von 100 µmol/L. Verbindung **153** inhibierte Thrombin mit einem $IC_{50} < 100$ µmol/L.

Bei einer Konzentration von 100 µmol/L inhibierten die Liganden **154**, **158** und **160** Thrombin nicht sehr stark. Ligand **157** hemmte Thrombin bis zu einer Restaktivität von 60% und Ligand **153** von 29%. Obwohl Ligand **163** zur Ausbildung einer starken Salzbrücke befähigt sein sollte, zeigt Thrombin eine Restaktivität von 62%. Zu einer deutlichen Senkung der Restaktivität führen die Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplexe **181** - **187** (Abbildung 58).

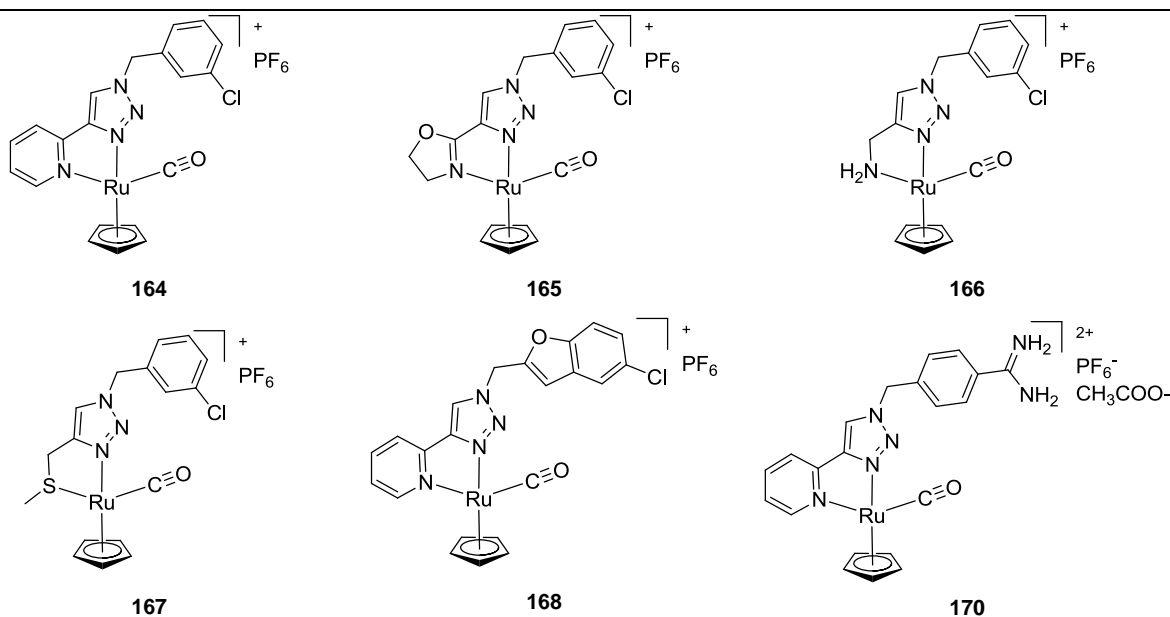
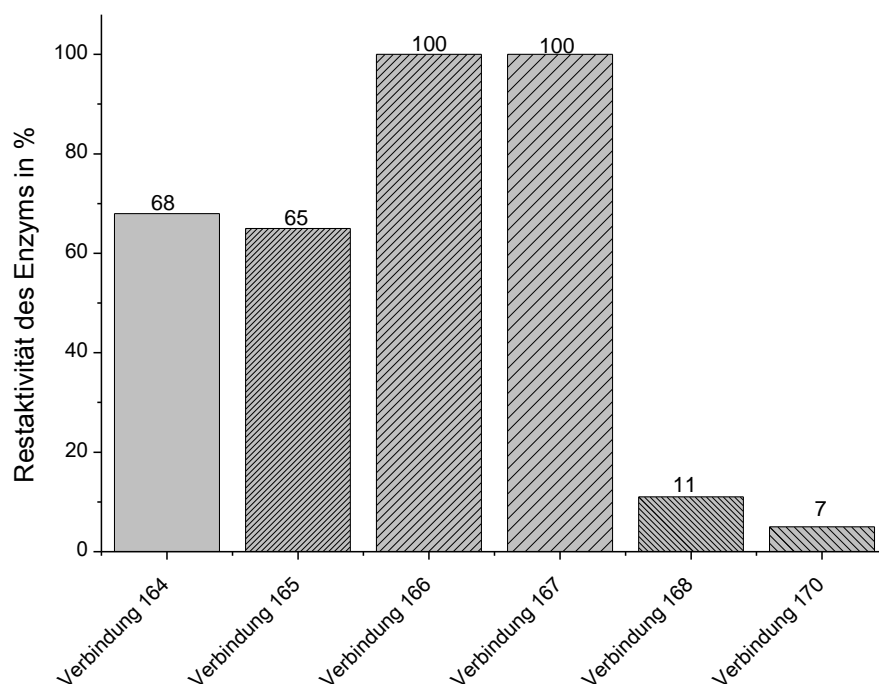


Abbildung 58: Messung der Enzymrestaktivität von Thrombin bei einer Inhibitorkonzentration von 100 $\mu\text{mol/L}$. Verbindungen **168** und **170** inhibierten Thrombin mit einem $\text{IC}_{50} < 100 \mu\text{mol/L}$.

Bei dieser Inhibitorklasse hemmt Verbindung **170** Thrombin durch die Salzbrücke des Amidins zu Asp189 am stärksten. Das Enzym zeigt eine Restaktivität von 7%. Verbindung **168** ohne Amidin inhibiert Thrombin zu 89%, wogegen Verbindungen **164** und **165** Thrombin zu 30% – 40% inhibieren. Hier scheint der kleine Oxazolinrest etwas besser als der Pyridinrest zu binden. Auffällig ist, dass Verbindungen **166** und **167** mit den sehr kleinen Y-Resten bei 100 $\mu\text{mol/L}$ Inhibitor-Konzentration keine Inhibition zeigen. Die Aminogruppe von Verbindung **166** scheint nicht in der Lage zu sein attraktive Wechselwirkungen zur Enzymumgebung auszubilden. Der Thioether **167** liegt als Gemisch

zweier Diastereomere vor. Die Methylgruppe kann zwei Orientierungen einnehmen, wobei eines der beiden Diastereomeren eventuell besser an das aktive Zentrum bindet. Allerdings besitzt die Methylgruppe einen relativ großen Platzbedarf, geschuldet der 109° Orientierung entlang der Triazolachse und somit scheint die Positionierung unterhalb der Thrombinschleife als unwahrscheinlich. Als nächste Verbindungsklasse wurden die Benzol-Halbsandwichkomplexe untersucht. Aus dieser Klasse konnten nur zwei Verbindungen getestet werden. Im Vergleich zu den Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplexen sind die Benzol-Halbsandwichkomplexe etwas weniger potent, wobei auch hier der Komplex mit der Chlorbenzofurylgruppe die stärkste Affinität besitzt (Abbildung 59).

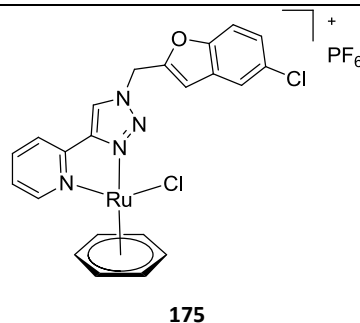
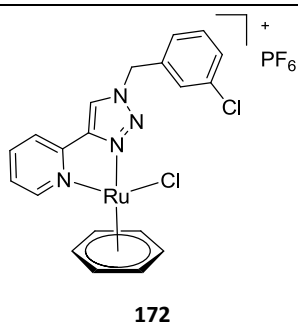
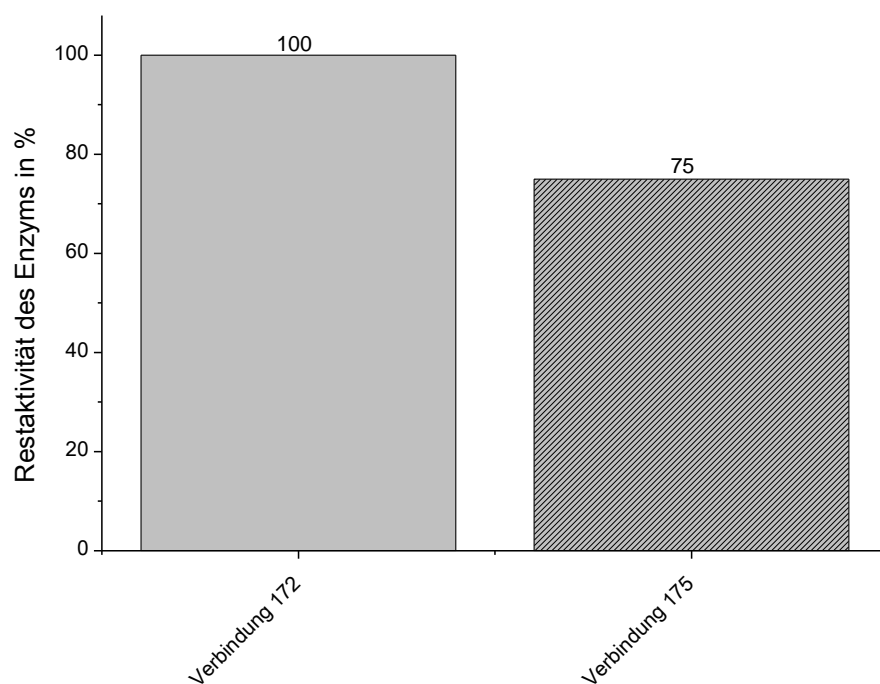


Abbildung 59: Messung der Enzymrestaktivität von Thrombin bei einer Inhibitorkonzentration von $100 \mu\text{mol/L}$. Keine der Verbindungen inhibiert Thrombin mit einem $\text{IC}_{50} < 100 \mu\text{mol/L}$.

Die Ergebnisse der Enzymtests mit den oktaedrischen 1,4,7-Trithiacyclonankomplexen sind in Abbildung 60 dargestellt. Verbindungen **179** und **181** wurden jeweils als Gemisch der beiden Isomere eingesetzt, Verbindung **182** als Gemisch der beiden Diastereomere.

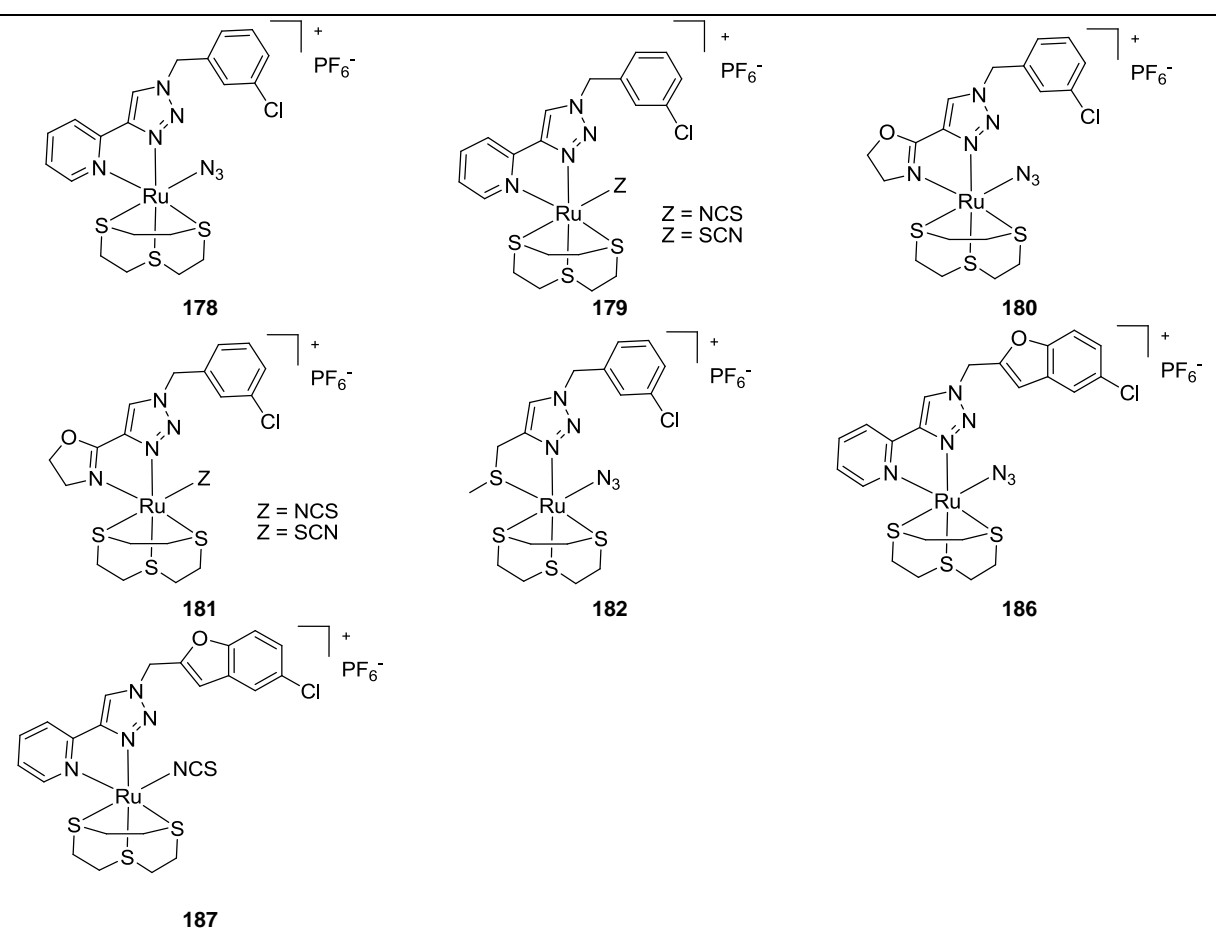
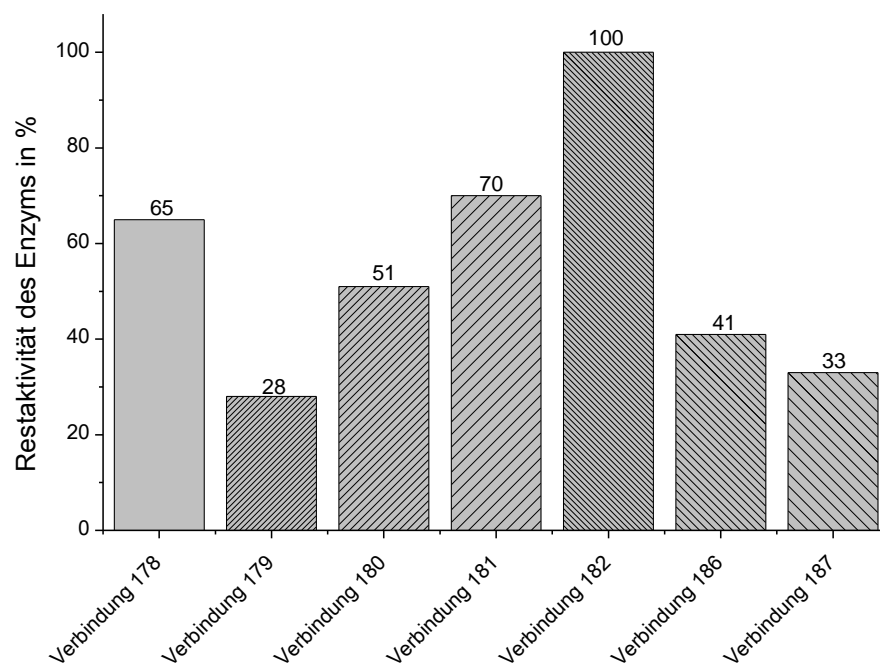


Abbildung 60: Messung der Enzymrestaktivität von Thrombin bei einer InhibitorKonzentration von 100 $\mu\text{mol/L}$. Verbindungen **179**, **186** und **187** inhibieren Thrombin mit einem $\text{IC}_{50} < 100 \mu\text{mol/L}$.

Aus dieser Serie besitzen insgesamt drei Verbindungen einen IC_{50} -Wert unter 100 $\mu\text{mol/L}$. Dabei handelt es sich um zwei Chlorbenzofuryl-Komplexe mit Thiocyanat und Azid als einzähnigen Liganden

sowie um einen Chlorbenzyl-Komplex mit ebenfalls Thiocyanat als einzähnigen Liganden. Somit scheint der hydrophobe Thiocyanato-Ligand bei Verbindungen **179** und **187** wichtig für die Affinität zu sein. Abbildung 61 zeigt die Restaktivität von Thrombin unter Verwendung der Bipyridin-Inhibitoren **193** – **197**. Die Bipyridin-Komplexe stellen die Inhibitorklasse mit der geringsten Fähigkeit Thrombin zu inhibieren dar.

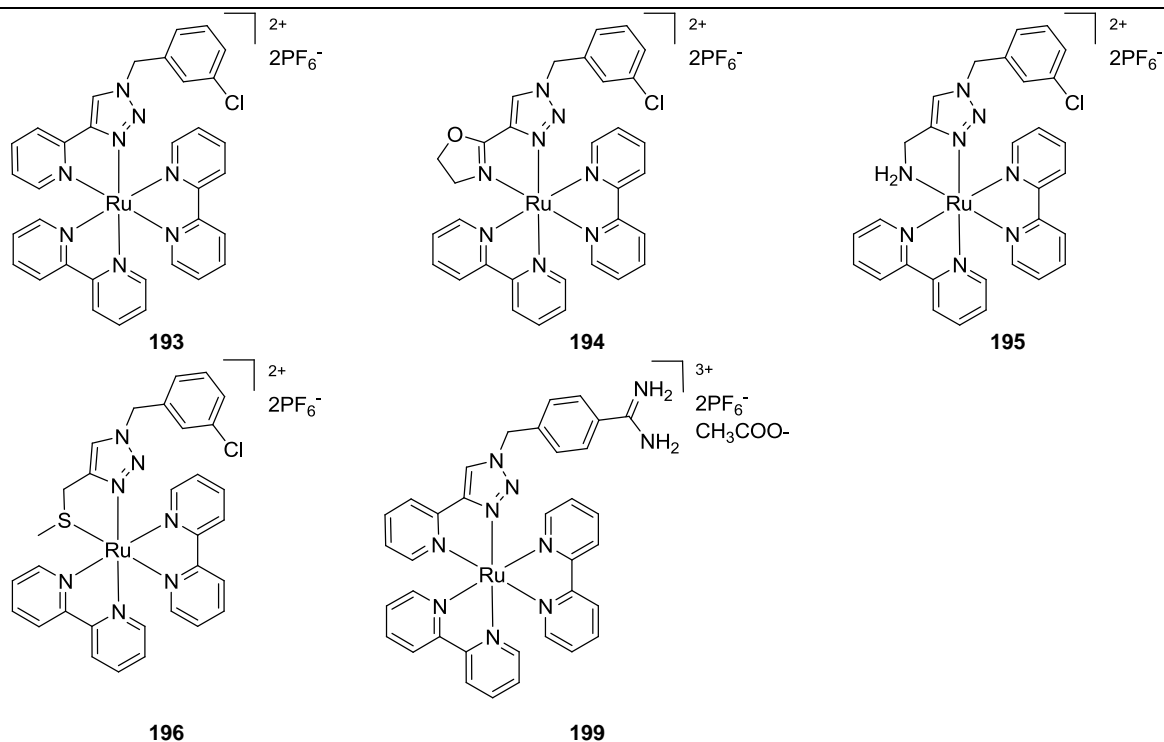
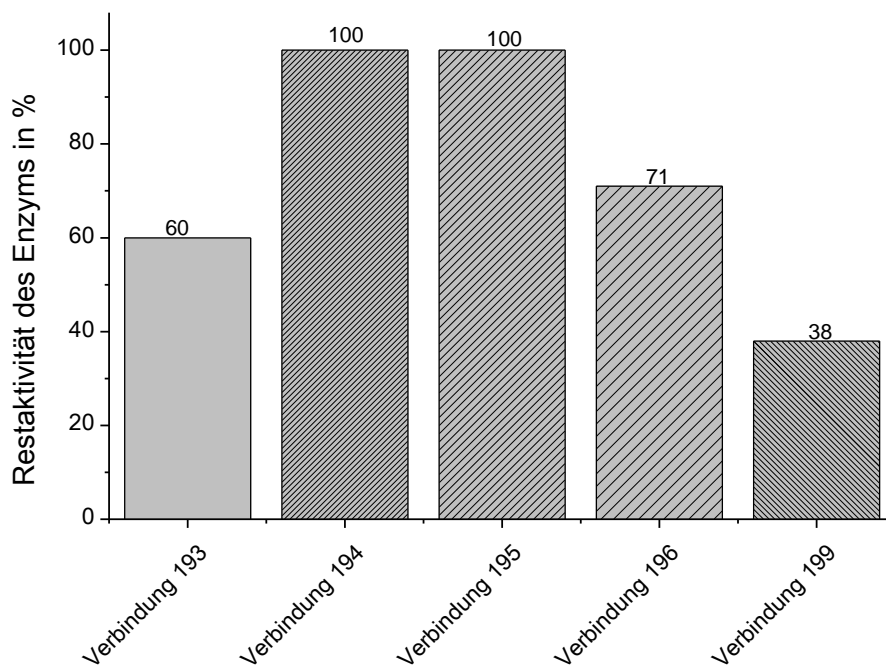


Abbildung 61: Messung der Enzymrestaktivität von Thrombin bei einer Inhibitorkonzentration von 100 $\mu\text{mol/L}$. Verbindung **199** inhibiert Thrombin mit einem $\text{IC}_{50} < 100 \mu\text{mol/L}$.

Als weitere Inhibitor­klasse wurden die oktaedrischen COD-Rutheniumkomplexe untersucht (Abbildung 62). Verbindung **202** zeigt bei einer Konzentration von 100 µmol/L keine Auswirkung auf die Restaktivität von Thrombin. Inhibitor **200** senkt die Aktivität auf 69% und Chlorbenzofuryl-Komplex **204** auf 18%. Wiederum ist der Inhibitor mit dem Chlorbenzofuryl-Rest der aktivste der Inhibitoren.

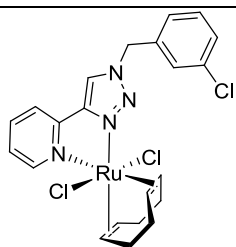
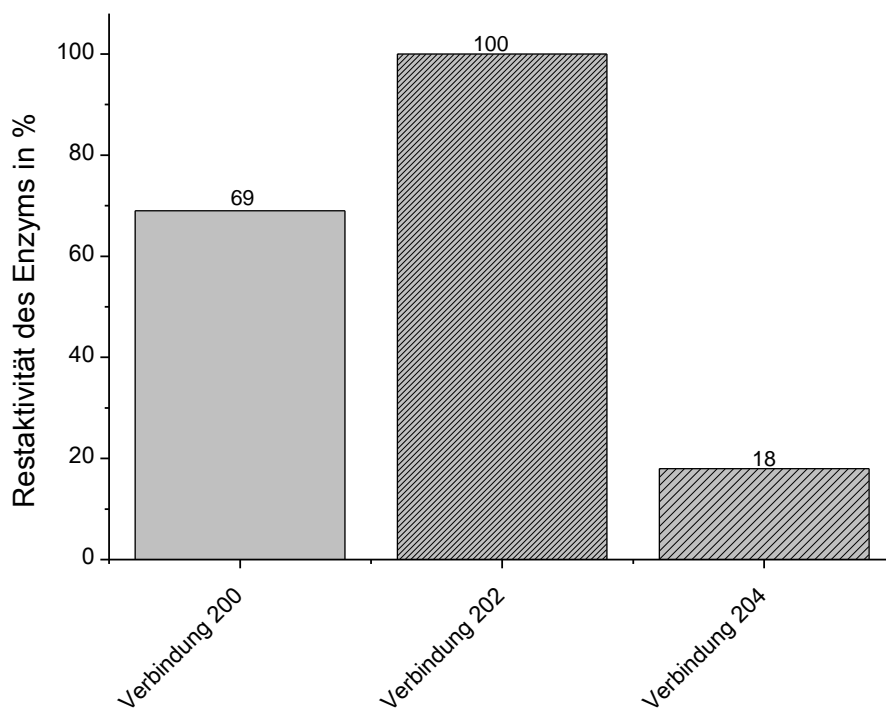
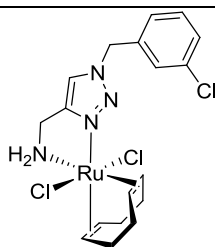
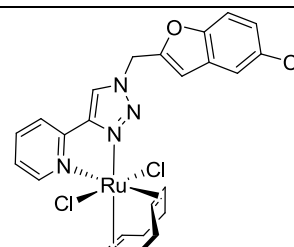

200

202

204

Abbildung 62: Messung der Enzymrestaktivität von Thrombin bei einer Inhibitor­konzentration von 100 µmol/L. Verbindung **204** inhibiert Thrombin mit einem $IC_{50} < 100$ µmol/L.

Als letzter Inhibitor wurde der dreizählig koordinierte Platinkomplex untersucht. Dieser hatte bei einer Konzentration von 100 µmol/L keinen Einfluss auf die Thrombinaktivität.

Bestimmung der Trypsin/Thrombin Selektivität

Anschließend wurde die Thrombin/Trypsin Selektivität bei allen Verbindungen mit einem IC_{50} kleiner $100 \mu\text{mol/L}$ bestimmt. Neben den beiden Amidin-Verbindungen **170** und **199** zeigen die Chlorbenzofuryl-Komplexe **168**, **180**, **181** und **204** die höchste Affinität für Thrombin. Auch bei Trypsin wurde die Restaktivität des Enzyms bei einer Inhibitorkonzentration von $100 \mu\text{mol/L}$ gemessen und die Ergebnisse sind in Abbildung 63 dargestellt. Bis auf die Bipyridinverbindung **199** inhibieren die Komplexe bevorzugt Thrombin.

Bei Thrombin scheinen vor allem die Liganden der Chlorbenzofuryl-Komplexe durch die etwas längere Chlorbenzofurylgruppe günstig positioniert zu sein und eine Ausfüllung der S' -Taschen durch die Liganden scheint wahrscheinlich. Der Amidininhibitor **170** bindet dagegen über eine Salzbrücke an Asp189 sowohl Trypsin, als auch Thrombin und positioniert so die Liganden des Metallzentrums an in den S-Taschen, der hydrophobe Cyclopentadienyl-Ligand sollte jeweils die S_3 -Tasche ausfüllen. Der Bipyridinkomplex muss aufgrund der Größe der Liganden zumindest bei Thrombin eine andere Positionierung an der Enzymoberfläche einnehmen. Eine Ausfüllung der S_3 -Tasche erscheint mit den Bipyridinliganden sehr unwahrscheinlich, vermutlich orientieren sich die Liganden in den S' -Taschen in Richtung der Lösungsumgebung. Für Trypsin existiert diese sterische Abstoßung nicht und der Inhibitor kann mit höherer Affinität binden. Inhibitor **179** inhibiert vermutlich analog den Benzofuryl-Komplexen und kann mit dem 1,4,7-Trithiacyclononan-Ligand die S' -Taschen ausfüllen.

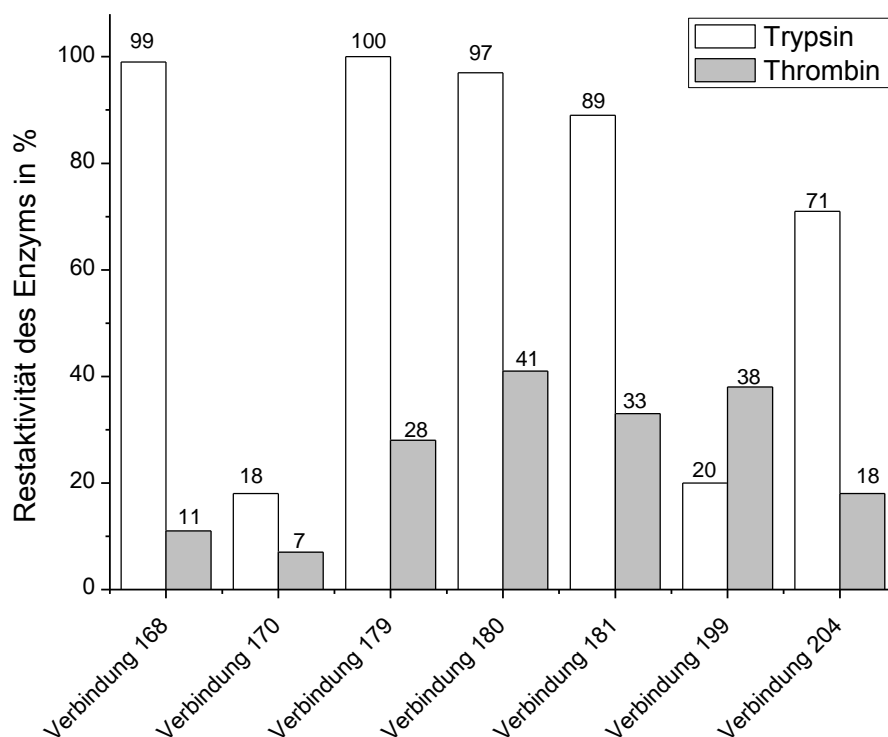


Abbildung 63: Vergleich der Restaktivitäten der Inhibitoren mit einem $IC_{50} < 100 \mu\text{mol/L}$ gegenüber Thrombin mit den Restaktivitäten der Inhibitoren gegenüber Trypsin.

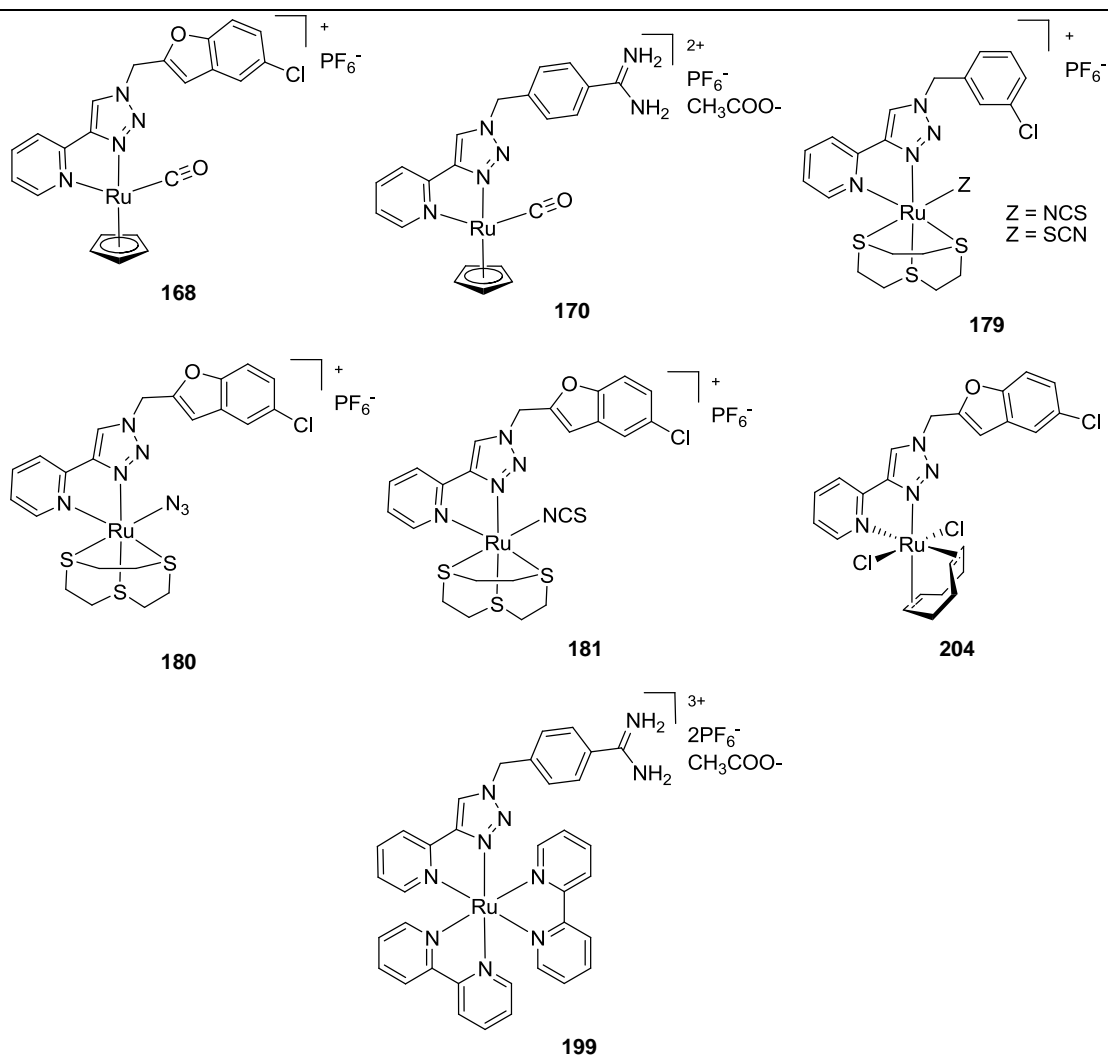


Abbildung 64: Übersicht der Verbindungen mit einem IC_{50} -Wert $< 100 \mu\text{mol/L}$.

Bestimmung der IC_{50} -Werte ausgewählter Verbindungen

Von den beiden potentesten Verbindungen wurden nun die genauen IC_{50} -Werte bestimmt. Des Weiteren sollte der Einfluss der basischen Amidin P1-Gruppe von **170** und der nicht-basischen Chlorbenzylgruppe von Verbindung **164** verglichen werden (Abbildung 65). Verbindung **168** inhibiert Thrombin bei einer Konzentration von $40 \mu\text{mol/L}$ zu 50%, die als zweitbestester Inhibitor identifizierte Verbindung hat also eine mäßige Affinität gegenüber Thrombin. In Anbetracht der Tatsache, dass die Halogen- π -Wechselwirkung wesentlich schwächer als die Salzbrücke des Amidins ist, verfügt die Verbindung jedoch ein sehr großes Potenzial zur Optimierung der Affinität. Verbindung **170** besitzt einen IC_{50} -Wert von $8.34 \mu\text{mol/L}$ und ist somit in etwa 4-5-fach potenter als Inhibitor **164**. Hier könnte aber lediglich eine Modifikation des Cyclopentadienyl-Liganden zusätzliche Affinität generieren.

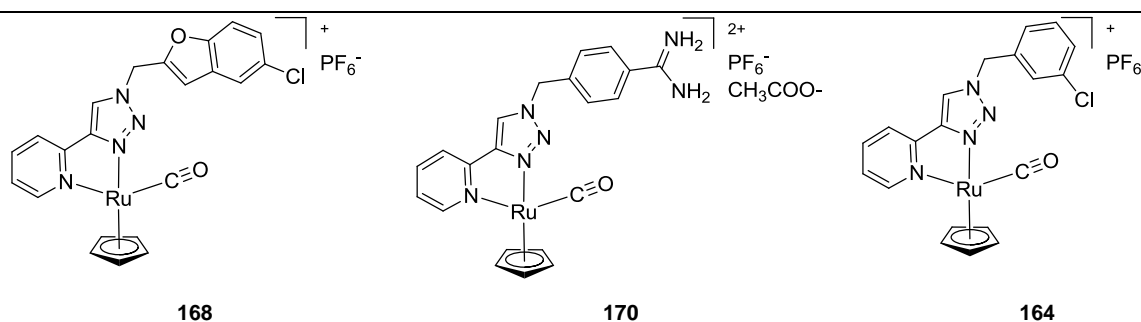
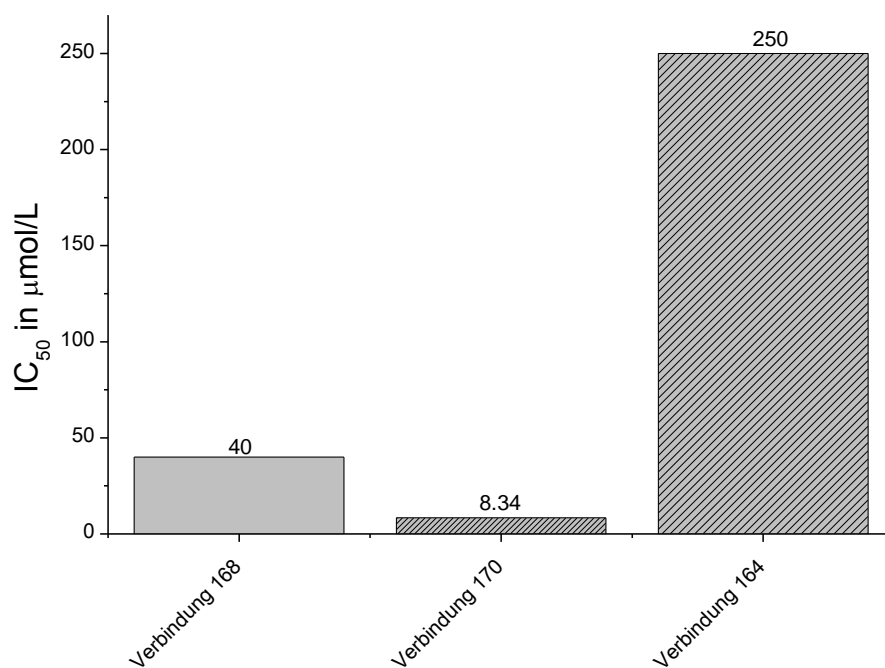
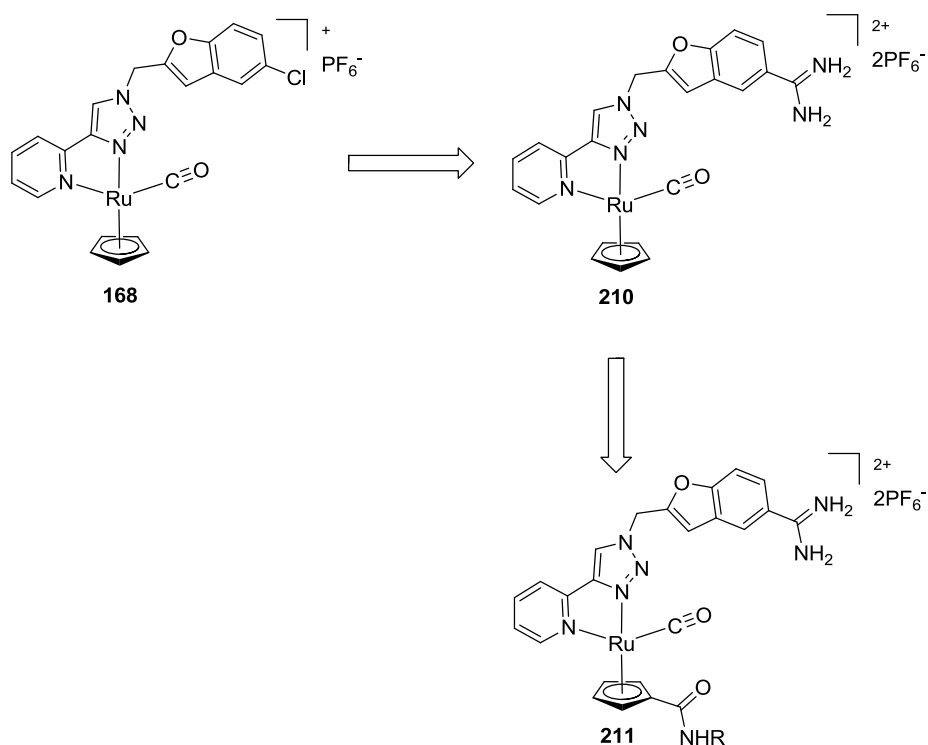


Abbildung 65: Vergleich der IC₅₀-Werte der Verbindungen **168**, **170** und **164**.

Verbindung **164** besitzt einen IC₅₀-Wert von 250 µmol/L und im Vergleich zu Verbindung **170** liegt die Affinität etwa 30-fach geringer, was in etwa der Literatur dem Wechsel der P1-Gruppen entspricht.^[139,140] Das Amidin kann durch die Ausbildung der Salzbrücke wesentlich stärkere Wechselwirkungen eingehen, als der Chlorbenzylrest. Daher sollte nun die optimierte Geometrie des Inhibitors **168** für das Design eines Amidin-Inhibitors verwendet werden.

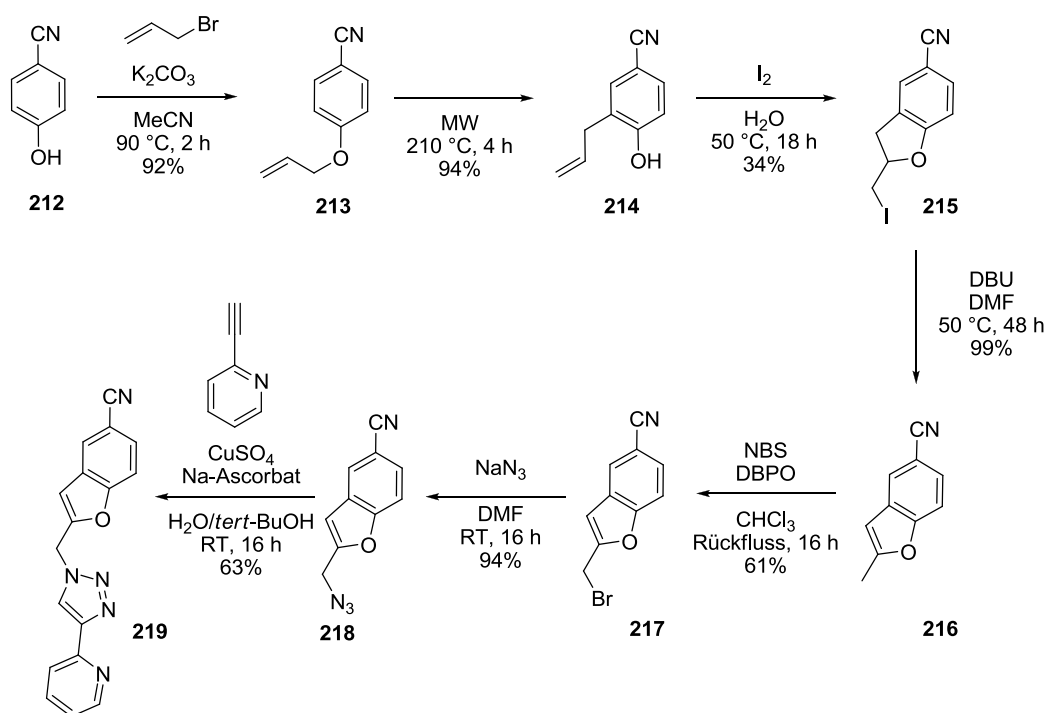
3.5.5 Optimierung des Inhibitors

Als potentester, nicht basischer Inhibitor wurde Verbindung **168** identifiziert. Dieser Inhibitor sollte im weiteren Verlauf als Leitstruktur dienen und weiter optimiert werden. Der Vergleich der Inhibitoren **210** und **211** spiegelt idealerweise die Verbesserung der Affinität nach Austausch der Chlorbenzylgruppe gegen eine Benzamidingruppe wider. Sollte sich diese Verbesserung der Affinität auch auf die Benzofurylgruppe übertragen lassen, so wäre mit einer 30-fachen Steigerung der Affinität ein IC_{50} von etwa $1.00 - 1.50 \mu\text{mol/L}$ zu erwarten. Durch Funktionalisierung des Cyclopentadienyl-Liganden in einem zweiten Optimierungsprozess könnte der IC_{50} -Wert unter $1.00 \mu\text{mol/L}$ gesenkt werden (Schema 70).



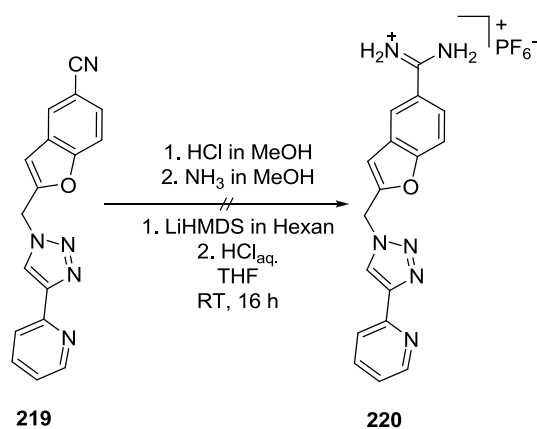
Schema 70: Weitere Optimierungsschritte der Leitstruktur **168** zum Amidinoinhibitor **210** und zu **211**.

Die Synthese des Amidin-Liganden erfolgte analog der Synthese von Ligand **158**.^[149] Dazu wurde ausgehend von 4-Hydroxybenzonitril **212** die OH-Funktion mit einer Allylgruppe versehen (**213**, 92%). Als nächstes wurde eine CLAISEN-Umlagerung im Mikrowellenreaktor durchgeführt. Die Verbindung **213** wurde auf 210°C in einem Mikrowellenreaktor erhitzt und **214** wurde in 94% Ausbeute erhalten. Im darauffolgenden Schritt wurde Verbindung **214** mit Iod in Wasser umgesetzt, wobei eine Iod-Cyclisierung zu **215** in 34% Ausbeute stattfand (Schema 71). Iodid wurde durch Reaktion mit DBU in DMF eliminiert und 2-Methylbenzofuran-5-carbonitril **216** wurde in quantitativer Ausbeute erhalten. Die Methylgruppe wurde radikalisch mit NBS und DBPO als Radikalstarter bromiert (**217**, 61%). Das Bromatom wurde mit Natriumazid substituiert (**218**, 94%) und anschließend unter Standardbedingungen in einer [3+2]-Cycloaddition zum Liganden **219** umgesetzt (63% Ausbeute).



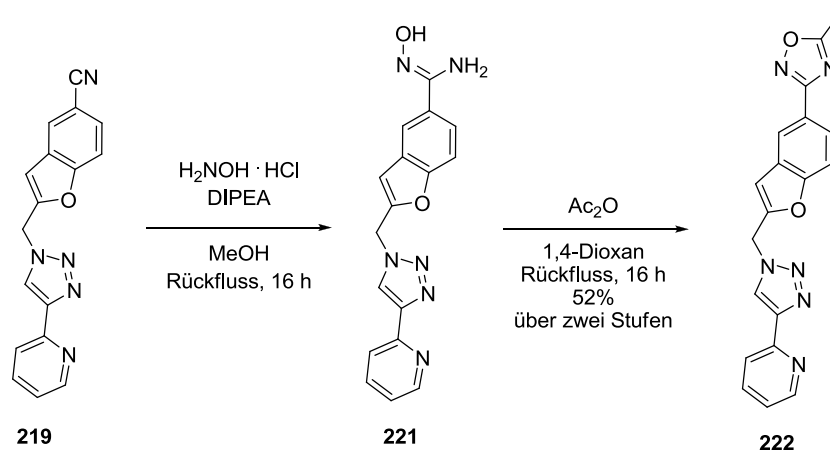
Schema 71: Darstellung des Ligandenvorläufers **219** in einer siebenstufigen Synthese ausgehend von 4-Hydroxybenzonitril **212**.

Eine direkte Umwandlung des Nitrils in das Amidin **220** war sowohl unter PINNER-Bedingungen, als auch unter Verwendung von LiHMDS nicht möglich (Schema 72).



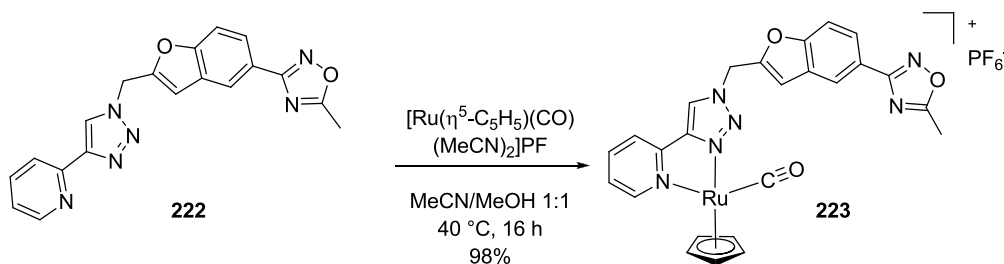
Schema 72: Versuchte Synthese des Liganden **220**.

Daher wurde die Nitrilfunktion von Verbindung **219** in Methanol mit Hydroxylamin-Hydrochlorid und Diisopropylethylamin als Base zum Oxim **221** umgesetzt. Das Oxim konnte nicht von der Base abgetrennt werden und wurde direkt in 1,4-Dioxan mit Essigsäureanhydrid in die aktivierte Form **222** in 52% Ausbeute über zwei Stufen überführt (Schema 73).



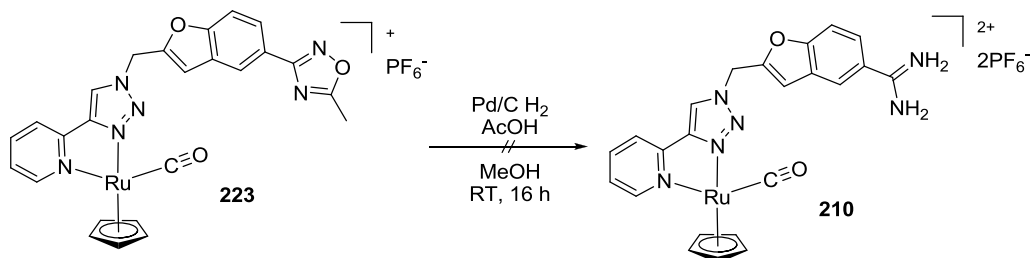
Schema 73: Synthese des aktivierten Oxims **222** ausgehend von dem Ligandenvorläufer **219** in zwei Stufen.

Der Ligand **222** wurde mit dem $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6$ -Vorläufer in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol umgesetzt. Die Inhibitor-Vorstufe **223** konnte so in 98% Ausbeute erhalten werden (Schema 74).



Schema 74: Synthese des Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplexes **223**.

Die Reduktion des aktivierten Oxims **223** zum Amidin **210** unter Standardbedingungen führte nicht zum gewünschten Produkt (Schema 75). Eine NMR-Analyse zeigte Zersetzungsprodukte im aromatischen Bereich. Da sich die Reduktion des Oxims nicht durchführen ließ wurde auf weitere Studien verzichtet.



Schema 75: Versuchte Reduktion des Halbsandwichkomplexes **223** zum Amidin **210**.

Fazit

Obwohl sich die Optimierung des Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplexes leider nicht wie gewünscht durchführen ließ, ist die hier vorgestellte Methode ein praktischer Ansatz zur Synthese neuer Thrombininhibitoren. In den vorangegangenen Studien zeigte sich, dass die basische Amidin-

Gruppe nur umständlich zu handhaben ist. Die Synthese und Reinigung der Liganden, sowie der Metallkomplexe beanspruchte häufig lange Zeit. Dagegen konnte durch Austausch der Amidgruppe gegen eine nichtbasische P1-Gruppe in Verbindung mit kupferkatalysierten [3+2] Cycloadditionen eine Vielzahl von Liganden und Komplexen ohne große Probleme synthetisiert werden. Die potenteste Verbindung wurde anhand der Messung der Restaktivität des Enzyms identifiziert und sollte in die vermutlich wesentlich potentere Amidinverbindung überführt werden, was jedoch der Instabilität der Benzofurylgruppe geschuldet nicht gelang.

3.6 Chromophor-unterstützte Photodeaktivierung

Inhibitor **49** beinhaltet das $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ **31** Grundgerüst und sollte unter Belichtung in der Lage sein Singulett Sauerstoff zu erzeugen (Abbildung 66). Die Verbindung wäre somit ein potentieller CALI-Inhibitor und zur lichtinduzierten Deaktivierung von Enzymen geeignet. Als Modellenzym zur Untersuchung wurde die Serinprotease Trypsin gewählt. Zum einen besitzt der Inhibitor einen IC_{50} -Wert für Trypsin von $2.29 \mu\text{mol/L}$ und zum anderen ist Trypsin dafür bekannt, unter oxidativem Stress geschädigt zu werden.^[161] Speziell die katalytische Triade mit einem Histidin ist ein ideales Ziel des Singulett Sauerstoffs.^[161] Mit der Bildung stabiler Endoperoxide wäre so eine Unterbrechung der katalytischen Aktivität zu erwarten. Daneben befinden sich in der Nähe des aktiven Zentrums noch weitere Aminosäuren, die unter physiologischen Bedingungen mit Singulett Sauerstoff reagieren (siehe unten).

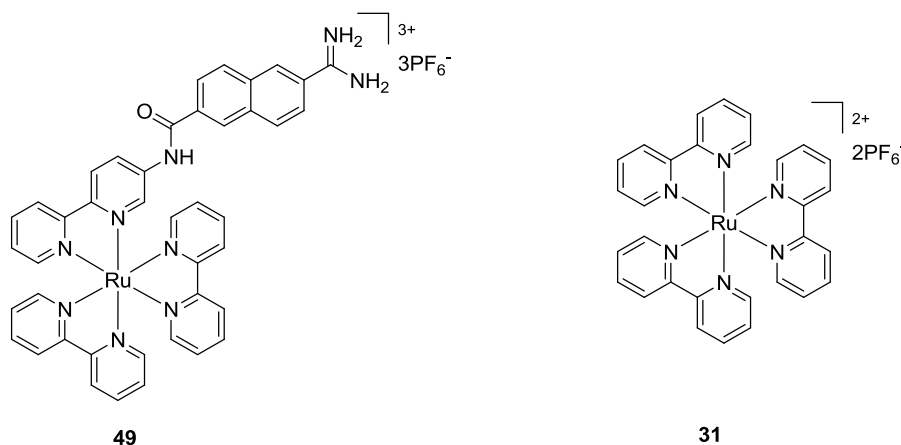


Abbildung 66: Strukturen der Singulett Sauerstoff Photosensibilisatoren **49** und $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ **31**.

3.6.1 Untersuchung der Enzymaktivität nach verschiedenen Belichtungszeiten

Als Referenzverbindung wurde $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ **31** gewählt. Ohne basische Gruppe sollte **31** nicht an Trypsin binden. Um dies zu verifizieren wurde zunächst der IC_{50} -Wert von **31** ohne Belichtung bestimmt. Die Verbindung zeigte im Bereich bis $100 \mu\text{mol/L}$ keine Inhibition von Trypsin, Inhibitor **49** dagegen inhibierte Trypsin mit einem IC_{50} -Wert von $2.29 \mu\text{mol/L}$.

Als nächstes wurden beide Verbindungen in verschiedenen Konzentrationen zusammen mit Trypsin für 30 min bei einer Wellenlänge $>400 \text{ nm}$ unter Verwendung einer Newport Hg/Xe Kohlebogenlampe mit einem Newport Filter belichtet und die IC_{50} -Werte wurden bestimmt. Die Potenz von Inhibitor **49** steigerte sich durch CALI nach 30 min Belichtung um den Faktor vier. Der $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ -Komplex **31** schädigte Trypsin allerdings ebenfalls (Abbildung 67). Die Schädigung kann grundsätzlich auf zwei verschiedenen Arten entstehen. Zum einen könnte der $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ -Komplex an eine hydrophobe Bindungstasche des Enzyms binden, zum anderen könnte sich der Komplex

während der Belichtungszeit aufgrund der BROWNSCHEN Molekularbewegung dem Enzym nähern. Das Enzym gelangt so innerhalb des 3-4 nm Diffusionsradius von Singulett Sauerstoff und wird oxidativ geschädigt. *In vivo*-Untersuchungen durch KODADEK *et al.* zeigten keine zufällige Deaktivierung bei mit HaloTag versehener Luciferase, wogegen *in vitro* deutliche Effekte zu sehen waren. Nur bei längerer Belichtungszeit konnte eine deutliche Senkung der Aktivität beobachtet werden.^[163] Dies lässt darauf schließen, dass die Lebensdauer von Singulett Sauerstoff in Zellen wesentlich geringer als die *in vitro* Lebensdauer ist. Durch Zugabe eines Singulett Sauerstoff Quenchers, sollten diese statistischen Effekte unterdrückt werden. Auf diese Weise kann außerdem nachgewiesen werden, dass Singulett Sauerstoff tatsächlich in der aktiven Tasche produziert wird. Der Diffusionsradius wird so auf ein Minimum begrenzt und zur Schädigung muss der Singulett Sauerstoff sehr nahe am aktiven Zentrum generiert werden. Dies ist der Fall, wenn der Inhibitor an der S1-Tasche bindet.

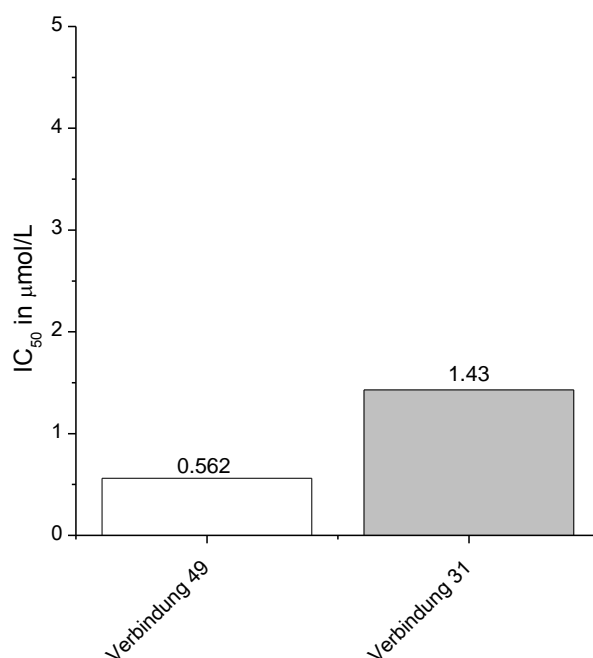


Abbildung 67: Auftragung der IC₅₀-Werte von Verbindungen **49** und **31** nach 30 min Belichtung.

Natriumazid ist in der Lage Singulett Sauerstoff abzufangen. Trifft Singulett Sauerstoff auf ein Azid-Ion, so wird unter Elektronenübergang ein intermediärer Charge-Transfer-Komplex, bestehend aus zwei Radikalspezies gebildet. Dieser Komplex zerfällt unter Elektronenübergang in Triplett Sauerstoff und ein Azid-Ion.^[164,165]

Der Einfluss von Natriumazid sollte an den Komplexen **49** und **31** untersucht werden. Dazu sollten die Komplexe mit Trypsin und Natriumazid für 30 min belichtet (Natriumazid-Konzentrationen: 0.00 mmol/L, 18.0 mmol/L, 28.6 mmol/L, 65.8 mmol/L, 100 mmol/L) und anschließend die Enzymaktivität bestimmt werden.

Zunächst wurde der Einfluss von Natriumazid auf Verbindung **49** untersucht. Dabei zeigte sich, dass die Natriumazid-Konzentration keinen Einfluss auf den IC_{50} -Wert besitzt. Der intermediär gebildete Biradikal-Komplex schädigt das Enzym selbst nicht und Natriumazid kann zum Abfangen von Singulett Sauerstoff verwendet werden (Abbildung 68). Bei der Untersuchung von Verbindung **31** zeigte sich deutlich der Einfluss von Natriumazid auf den IC_{50} -Wert, vor allem bei hohen Konzentrationen. Eine Natriumazid-Konzentration von 18.0 mmol/L hebt den IC_{50} -Wert etwa um den Faktor zwei, 28.6 mmol/L um den Faktor fünf und 65.8 mmol/L um den Faktor sieben an. Bei einer Natriumazidkonzentration von 100 mmol/L ließ sich kein IC_{50} -Wert im Inhibitor-Konzentrationsbereich bis 100 μ mol/L bestimmen (Abbildung 68).

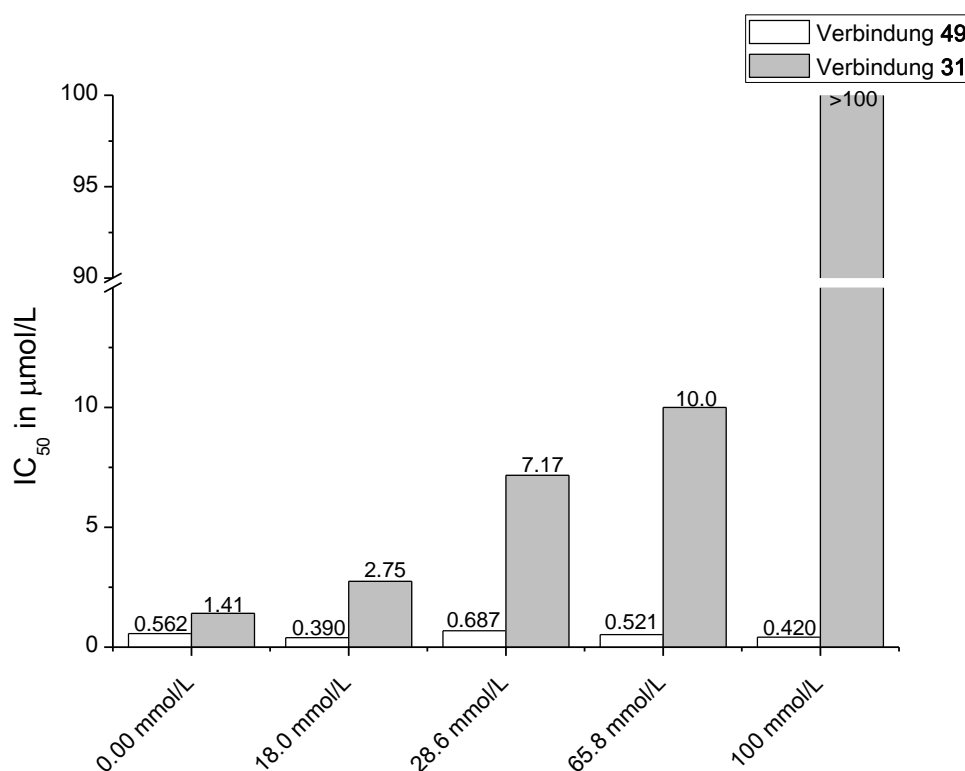


Abbildung 68: IC_{50} -Werte von Verbindung **49** sowie Verbindung **31** nach 30 min Belichtung mit verschiedenen Natriumazid Konzentrationen.

Abbildung 68 verdeutlicht eindrucksvoll, dass Singulett Sauerstoff in der aktiven Tasche produziert wird. Weitere Studien wurden bei einer Natriumazid-Konzentration von 100 mmol/L durchgeführt. Neben Verbindung **49** und **31** wurden von PETER GÖBEL weitere Bipyridinkomplexe synthetisiert und von MAIKE SIMON unter den ermittelten Bedingungen in einer Bachelorarbeit untersucht.^[166] Im Folgenden sollen diese Ergebnisse zusammen mit den Messwerten von Verbindung **49** und **31** Ergebnisse diskutiert werden (Abbildung 69).

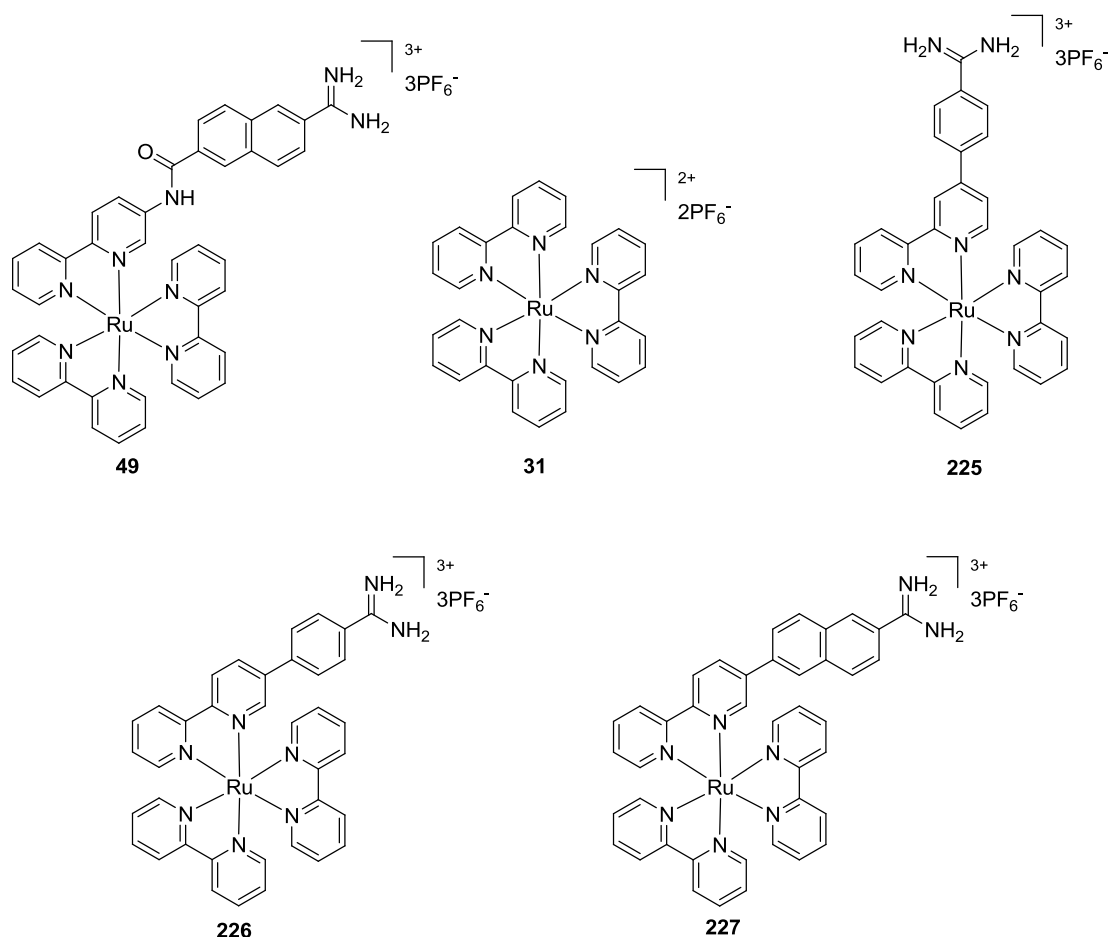


Abbildung 69: Übersicht der verschiedenen CALI-Inhibitoren. Verbindungen **225**, **226** und **227** wurden von PETER GÖBEL synthetisiert und von MAIKE SIMON im Rahmen einer Bachelorarbeit untersucht.^[166]

Die IC₅₀-Werte der Verbindungen wurden nach 60 min und 120 min Belichtungszeit bestimmt (Abbildung 70). In allen Fällen ist eine Wirkungssteigerung der Inhibitoren durch Belichtung zu erkennen. Verbindung **31** zeigt zwar trotz der Zugabe von Natriumazid einen Lichteffect, allerdings sinkt der IC₅₀-Wert auch nach 120 min Belichtungszeit nicht in den nanomolaren Bereich. Verbindung **225** inhibiert Trypsin nur unwesentlich stärker als [Ru(bpy)₃]²⁺ und ist so als CALI-Inhibitor nicht geeignet. Verbindung **226** erreicht nach 120 min Belichtungszeit einen IC₅₀-Wert von 290 nmol/L, was einer 7.5-fachen Steigerung der Potenz entspricht. Verbindungen **49** und **227** stellen jedoch die potentesten CALI-Inhibitoren mit IC₅₀-Werten von 101 nmol/L bzw. 84.0 nmol/L dar (Verbesserung Faktor 23, bzw. 21). Beim Vergleich der beiden Verbindungen fällt die strukturelle Verwandtschaft auf, zusammenhängend mit einem ähnlichen Anstieg der Inhibitorpotenz. Diese beiden Inhibitoren positionieren das Metall etwas weiter außerhalb des aktiven Zentrums. Triplett Sauerstoff sollte so ungehindert zum Metallzentrum diffundieren und in Singulett Sauerstoff umgewandelt werden. Dieser kann an der Enzymoberfläche zu irreversiblen Schäden führen. Die anderen Verbindungen scheinen nicht in der Lage zu sein, entweder mit nötiger Affinität an das Enzym zu binden, oder in ausreichender Menge Singulett Sauerstoff zu produzieren. Denkbar wäre außerdem die Möglichkeit,

dass die Inhibitoren mit ihrer Struktur die Enzymoberfläche abschirmen, so dass diese durch Singulett Sauerstoff nicht erreicht und geschädigt werden kann.

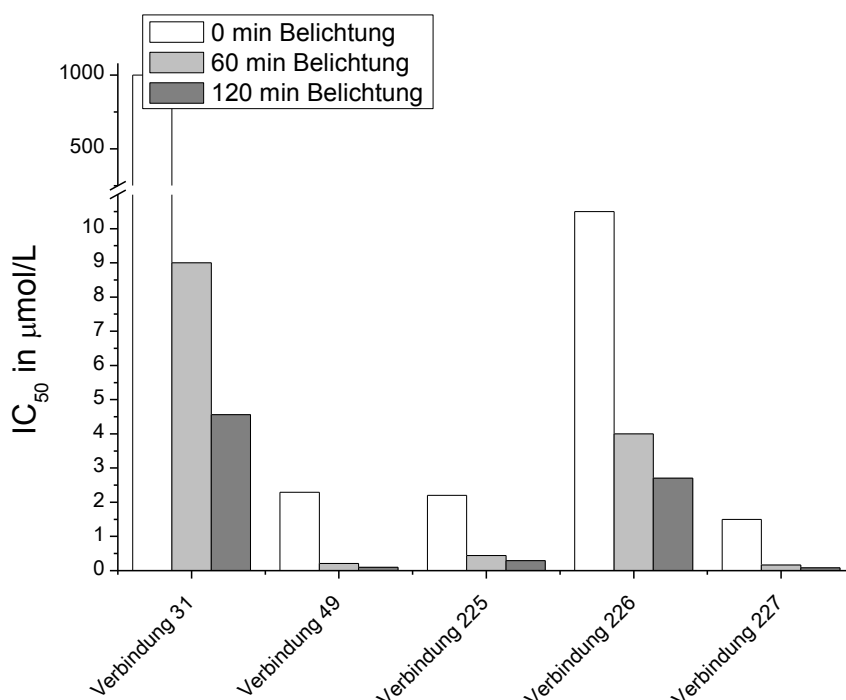


Abbildung 70: Übersicht der verschiedenen CALI-Inhibitoren, Verbindungen **225**, **226** und **227** wurden von PETER GÖBEL synthetisiert und von MAIKE SIMON im Rahmen einer Bachelorarbeit untersucht. ^[166] Die IC₅₀-Werte sind zur besseren Übersicht in Tabelle 6 aufgeführt.

Tabelle 6: IC₅₀-Werte der gemessenen Verbindungen (IC₅₀ in µmol/L).

<u>Zeit</u>	<u>31</u>	<u>49</u>	<u>225</u>	<u>226</u>	<u>227</u>
0 min	>> 1000	2.29 ± 0.30	10.5 ± 2.60	2.20 ± 0.90	1.50 ± 0.30
60 min	> 9.00	0.206 ± 0.041	4.00 ± 1.1	0.443 ± 0.127	0.162 ± 0.008
120 min	4.56 ± 4.72	0.101 ± 0.012	2.70 ± 0.3	0.290 ± 0.097	0.084 ± 0.008

Die oxidative Schädigung des Enzyms beruht auf der Reaktion bestimmter Aminosäure-Reste mit Singulett Sauerstoff.^[40] Eine Vielzahl dieser Aminosäuren ist in direkter Umgebung vom Inhibitor zu finden (Abbildung 71). Die hervorgehobenen Reste liegen etwa 7 – 13 Å entfernt vom vermuteten Ort des Metallzentrums. Eine besondere Rolle spielt His57 der katalytischen Triade. Wird dieser Rest oxidiert, so wird die katalytische Triade deaktiviert und die Geschwindigkeit der Enzymreaktion nimmt stark ab.^[162]

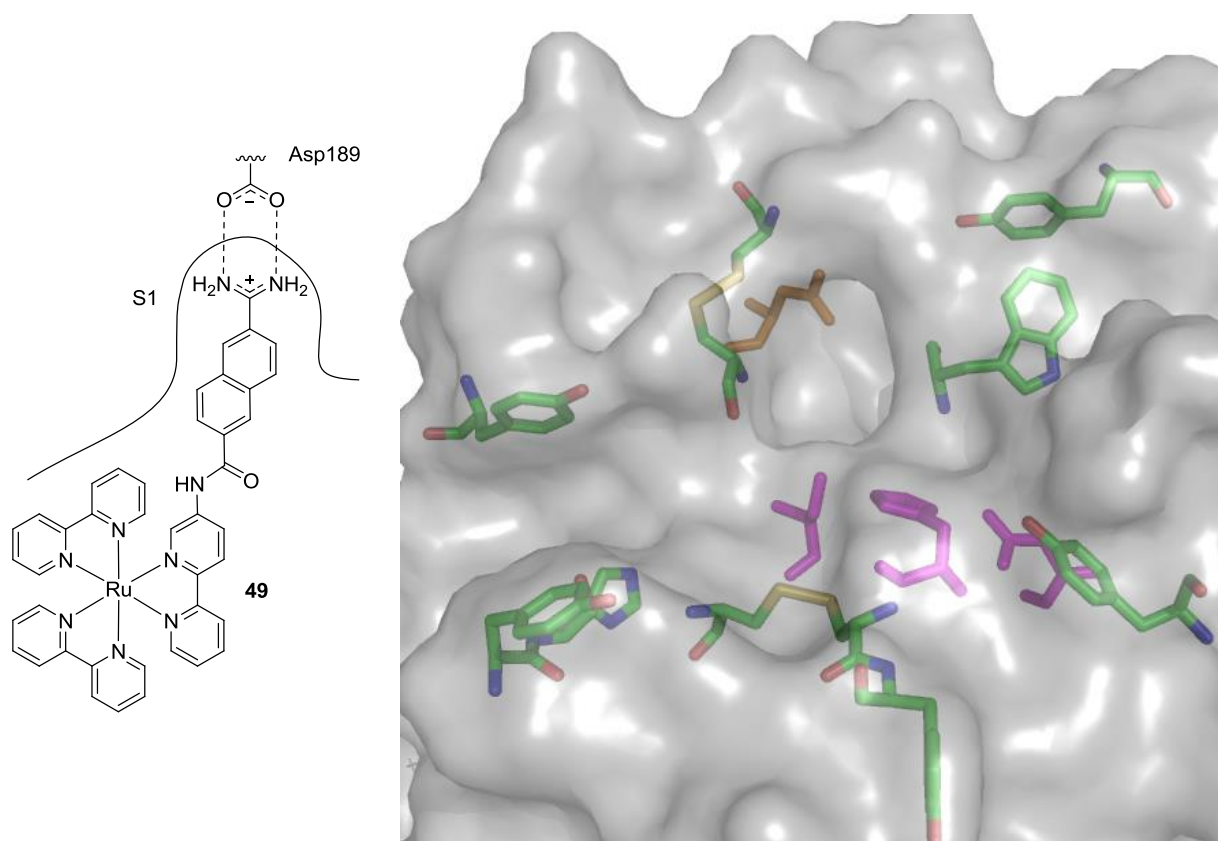


Abbildung 71: Links: Schema des Inhibitors mit Positionierung im aktiven Zentrum. Rechts: Struktur von Trypsin, hervorgehoben sind die oxidationsempfindlichen Aminosäuren, die katalytische Triade (magenta) und Asp189 (orange, basierend auf PDB: 1Y3U).

3.6.2 Photostabilität

Für eine Anwendung von Verbindung **49** als CALI-Inhibitor ist die Photostabilität über den kompletten Belichtungszeitraum ausschlaggebend, denn grundsätzlich können Aromaten mit Singulett Sauerstoff Reaktionen eingehen. Die Stabilität von Verbindung **49** wurde durch Belichtung in DMSO- d_6 untersucht. Es wurde in regelmäßigen Abständen ein ^1H -NMR-Spektrum aufgenommen (Abbildung 72). Es ist zu sehen, dass keine weiteren Signale im aromatischen Bereich entstehen. Einige Signale werden durch den mit der Zeit steigenden Wassergehalt der DMSO-Lösung verschoben. Folglich ist Verbindung **49** mindestens bis 300 min Belichtungszeit stabil, was für die Anwendung als CALI-Inhibitor mehr als ausreichend ist.

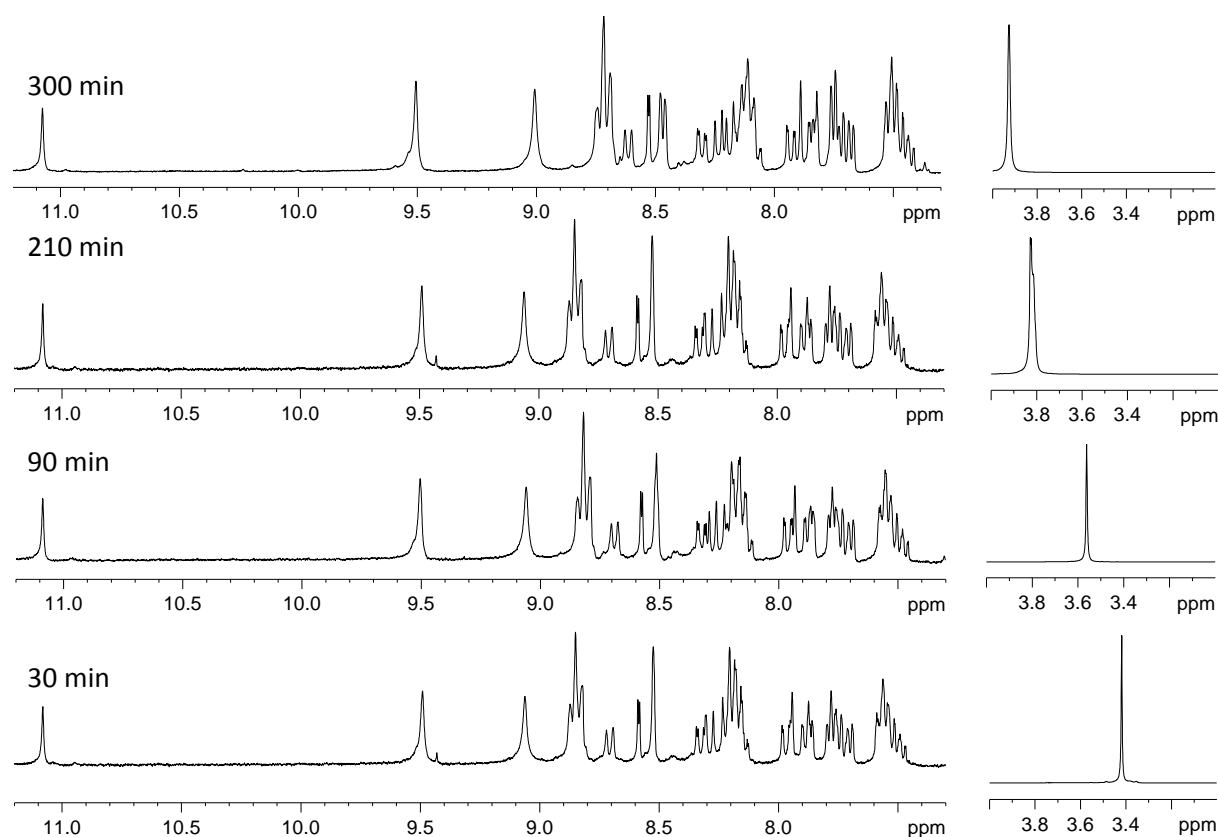


Abbildung 72: Stabilitätstest von Verbindung **49**. Auftragung verschiedener ^1H -NMR Spektren nach 30, 90, 210 und 300 min Belichtung.

Nachdem die ausreichende Stabilität der Verbindung nachgewiesen wurde, sollte im weiteren Verlauf das Enzym auf die oxidative Schädigung untersucht werden.

3.6.3 Nachweis der oxidativen Schädigung

Zur Untersuchung der oxidativen Schädigung wurde der Inhibitor **49** in einer Konzentration von $1.00\ \mu\text{mol/L}$ zusammen mit Trypsin 30 min belichtet. Die belichtete Probe und eine unbelichtete Kontrollprobe wurden auf etwa $10\ \mu\text{mol/L}$ aufkonzentriert und per SDS-Gelelektrophorese gegen einen Standard analysiert (Abbildung 73). Trypsin ist auf Höhe der 20 kD Bande (Masse Trypsin: 23 kD) des Standards zu erkennen, sowohl in der Blindprobe (links), als auch in der belichteten Probe (rechts) und es können keine weiteren Banden identifiziert werden. Eine mögliche Fragmentierung von Trypsin tritt nicht auf. Vermutlich werden einzelne Aminosäuren oxidiert, wobei Fragmente der Seitenketten abgespalten werden oder Sauerstoff addiert wird. Dabei bleibt die Proteinmasse konstant und über Gelelektrophorese kann die Oxidation nur schwierig nachgewiesen werden.

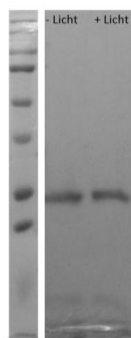


Abbildung 73: Analyse der Trypsin-Proben mittels Gelelektrophorese.

Anschließend wurde eine Proteinmassenbestimmung durchgeführt (Abbildung 74). Links ist die unbelichtete Trypsinprobe dargestellt, rechts die belichtete Probe. Rechts sind weitere Massen zu sehen, die auf zusätzliche Trypsin-Derivate durch oxidative Schädigung schließen lassen. Allerdings kann keine der gezeigten Massen durch einfache Addition von Sauerstoff erklärt werden, da sich es bei der Oxidation um eine komplexe Abfolge von verschiedenen Prozessen zu handeln scheint.

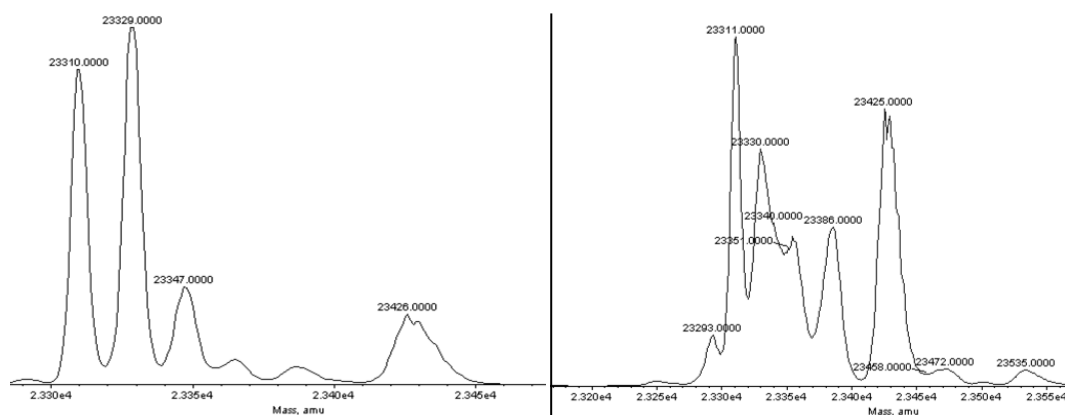


Abbildung 74: Massenspektrometrische Analyse der Trypsin-Proben. Links: Die unbelichtete Trypsinprobe. Rechts: belichtete Probe. Es sind zusätzliche Massen zu erkennen, die sich aber nicht durch Sauerstoffaddition erklären lassen.

3.6.4 Untersuchung anderer Enzymklassen

Um die Selektivität des CALI-Inhibitors gegenüber eines Enzyms aus der gleichen Enzymklasse und aus einer anderen Enzymklasse zu untersuchen, wurde der Inhibitor zusammen mit den Enzymen Faktor Xa und Carboanhydrase (durchgeführt von PETER GÖBEL) belichtet und die Enzymaktivität bestimmt (Abbildung 75). Die Untersuchung wurde ohne Zusatz von Natriumazid und bei einer Belichtungszeit von 60 min durchgeführt. Als Inhibitorkonzentration wurde 300 nmol/L gewählt.

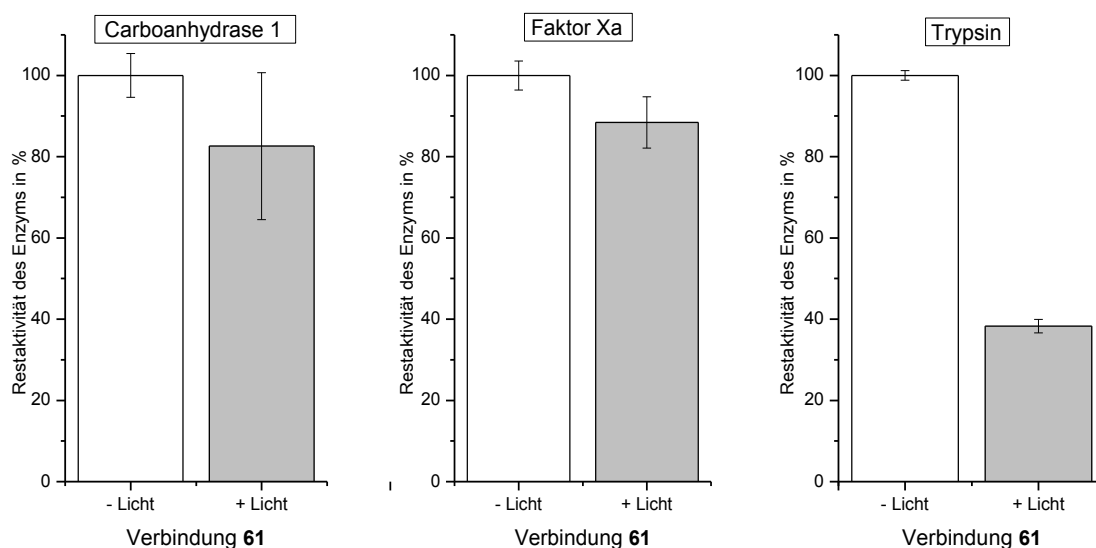


Abbildung 75: Untersuchung des CALI-Effektes bei anderen Enzymklassen. Neben Carboanhydrase 1 und Faktor Xa sind die Ergebnisse von Trypsin dargestellt.

Bei einer Konzentration von 300 nmol/L und ohne Belichtung inhibiert Verbindung **49** keines der drei Enzyme. Nach 60 min Belichtung sinkt die Restaktivität von Carboanhydrase 1 auf 83%, von Faktor Xa sinkt auf 88% und von Trypsin auf 38%. Diese Ergebnisse zeigen, dass der CALI-Ansatz sehr vielversprechend ist: Ein mäßig affiner Inhibitor kann in einen hochpotenten, hochselektiven Inhibitor überführt werden. Wird der Inhibitor in geringer Dosierung angewendet, so werden andere Enzyme nicht, bzw. kaum geschädigt. Verbindung **49** sollte im Folgenden weiter modifiziert werden, so dass die Potenz weiter gesteigert, bzw. die Belichtungszeit weiter verkürzt wird.

3.6.5. Verwendung von Ammoniumperoxodisulfat als Kooxidationsmittel

In Studien zur Quervernetzung von Enzymen über Dityrosinbrücken wurde von KODADEK *et al.* Ammoniumperoxodisulfat (APS) zusammen mit $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ verwendet. Unter Belichtung findet ein Metall-Ligand-Elektronenübergang statt, wobei das am Liganden lokalisierte Elektron von APS aufgenommen wird und zurück bleibt ein Ru(III)-Komplex, der ein sehr starkes Oxidationsmittel darstellt. Dieser Komplex nimmt ein Elektron aus der Umgebung auf und wird somit wieder zum

Ru(II)-Komplex reduziert.^[167,168] Bevorzugt geben dabei Tyrosin-Reste Elektronen ab und bilden Radikalspezies, die miteinander reagieren und Quervernetzungen zwischen verschiedenen Enzymen ausbilden. Wie bereits in Abbildung 71 gezeigt wurde, befinden sich in der Nähe des aktiven Zentrums mehrere Tyrosin-Reste. Daher sollte die Verwendung von Ammoniumperoxodisulfat als Kooxidationsmittel einen deutlichen Effekt auf die Enzymaktivität haben. Durch intra- und intermolekulare Quervernetzungen sowie Radikalreaktionen an der Enzymoberfläche sollte das Enzym deaktiviert werden. Im Folgenden wurden $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ **31** als Kontrollverbindung und der Inhibitor **49** untersucht. Dazu wurden die Verbindungen in verschiedenen Konzentrationen unter Zusatz von 100 mmol/L Natriumazid und 2.5 mmol/L Ammoniumperoxodisulfat belichtet und die Enzymaktivität anschließend bestimmt. Da das APS während der Belichtung verbraucht wird, wurden die Verbindungen wesentlich kürzer dem Licht ausgesetzt. Als Belichtungszeiten wurden 5 min und 15 min gewählt (Abbildung 76). Bei Betrachtung der Ergebnisse wird deutlich, dass die Verwendung von Ammoniumperoxodisulfat einen zusätzlichen Effekt im Vergleich zur reinen Deaktivierung durch Singulett Sauerstoff aufweist. Bereits nach 5 min Belichtungszeit fällt der IC_{50} von 2.29 $\mu\text{mol/L}$ auf 900 nmol/L. Nach 15 min Belichtung ist ein IC_{50} von 543 nmol/L erreicht. Allerdings zeigt $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ einen stärkeren Effekt, der zudem auch unabhängig von der Belichtung zu sein scheint. Nach 5 min wurde ein niedrigerer IC_{50} -Wert erreicht als nach 15 min (145 nmol/L gegenüber 182 nmol/L). Vermutlich wird Ammoniumperoxodisulfat bereits innerhalb der ersten Minuten verbraucht. Insgesamt war dieser Ansatz wenig praktikabel und auf weitere Studien wurde verzichtet.

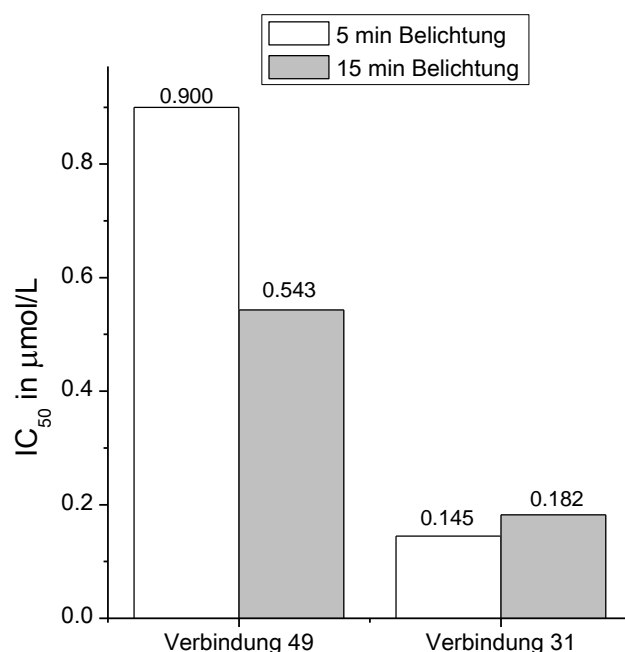


Abbildung 76: Vergleich der IC_{50} -Werte von Inhibitor **49** und $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ **31** unter Verwendung von APS als Kooxidationsmittel.

3.6.6 Modifikationen des Cali-Inhibitors

Neben dem $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ -Komplex können weitere Bipyridin-Derivate für Photochemie verwendet werden. Besonders geeignet erschien die Untersuchung eines Komplexes mit dem 1,4,5,8-Tetraazaphenanthren-Ligand (tap) **228**,^[171] denn Ruthenium-tap-Komplexe besitzen die Besonderheit, dass diese in einer Elektrontransferreaktion unter Lichteinfluss mit Biomolekülen, vorrangig mit Guanidineinheiten, aber auch mit Tryptophan reagieren. Dabei werden Photoaddukte gebildet, die in verschiedenen Studien bereits untersucht wurden.^[172-176] Auf diese Weise sollte ein irreversibler Inhibitor erhalten werden, der zudem in der Lage ist Singulett Sauerstoff zu produzieren. Das Photoaddukt sollte untersucht werden um Informationen über die Art und Position der oxidativen Schädigung zu liefern.

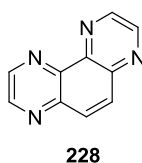
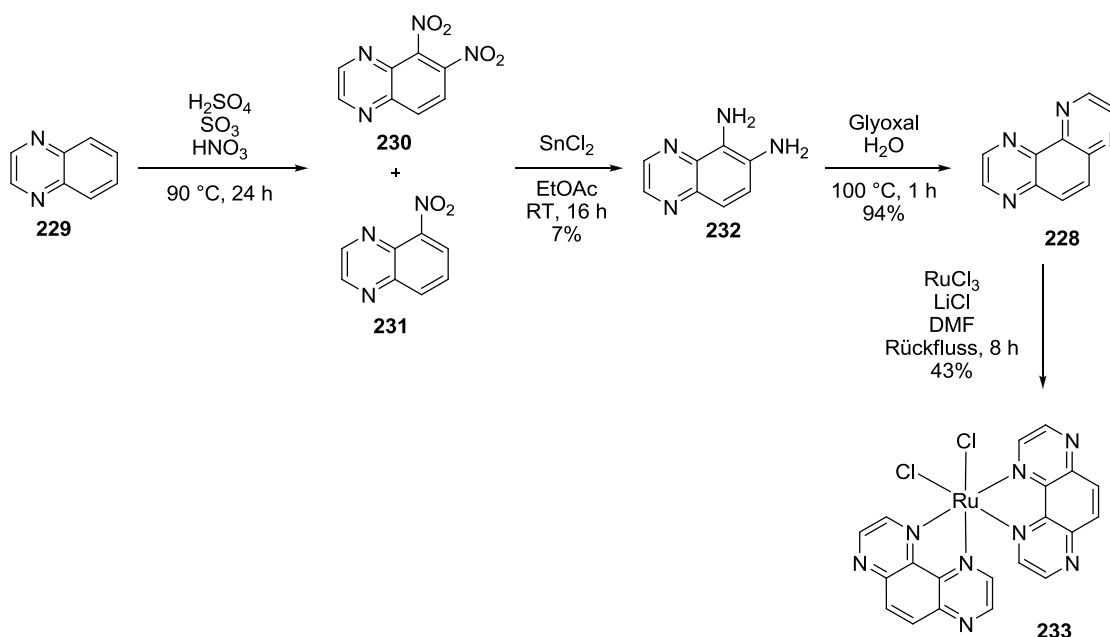


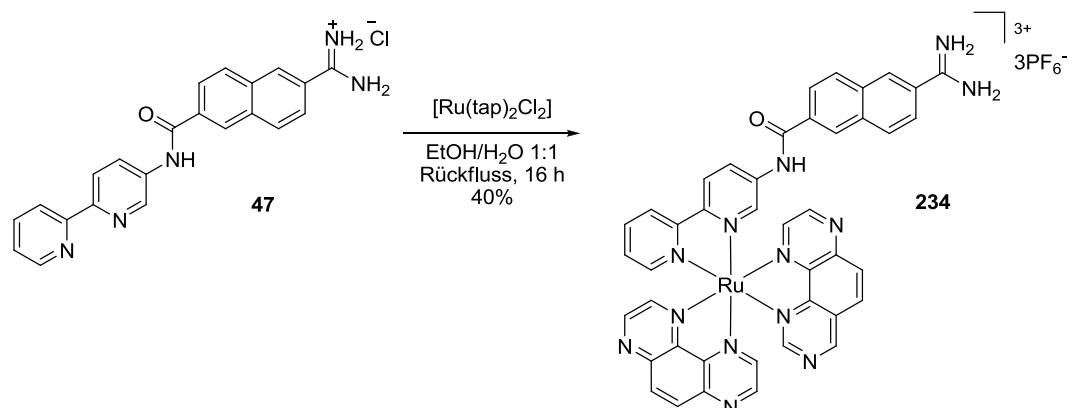
Abbildung 77: Struktur 1,4,5,8-Tetraazaphenanthren-Liganden **228**.

Zur Synthese des tap-Liganden wurde Chinoxalin **229** mit Nitriersäure versetzt und eine Mischung des Mono- und Dinitrochinoxalins (**230** und **231**) wurde erhalten.^[171] Die Nitrogruppen wurden mit Zinn(II)chlorid in Ethylacetat reduziert und das gewünschte Diaminochinoxalin **232** konnte sauber isoliert werden (7% über zwei Stufen). Anschließend wurde mit Glyoxal der tap-Ligand **228** in 94% Ausbeute hergestellt. Der Ligand wurde unter Standardbedingungen^[170] mit Rutheniumtrichlorid umgesetzt. Der tap-Vorläufer **233** konnte so in 53% Ausbeute isoliert werden (Schema 76).



Schema 76: Synthese des tap-Vorläufers **233** ausgehend von Chinoxalin **229** in einer vierstufigen Reaktionssequenz.

Zur Synthese der entsprechenden Verbindung wurde der $[\text{Ru}(\text{tap})_2\text{Cl}_2]$ -Vorläufer verwendet. Die tap-Verbindung **234** wurde durch Umsetzung mit dem Ligand **47** in einem Gemisch aus Ethanol/Wasser in einer Ausbeute von 40% erhalten (Schema 77).



Schema 77: Synthese des tap-Komplexes **234** in einem Gemisch aus Ethanol und Wasser in 40% Ausbeute.

Der erhaltene Tap-Komplex **234** wurde nun in verschiedenen Konzentrationen zusammen mit Trypsin unter Natriumazid-Zusatz belichtet und die Enzymaktivität bestimmt. Die Ergebnisse sind zur besseren Übersicht zusammen mit den Ergebnissen von Inhibitor **49** in Abbildung 78 dargestellt.

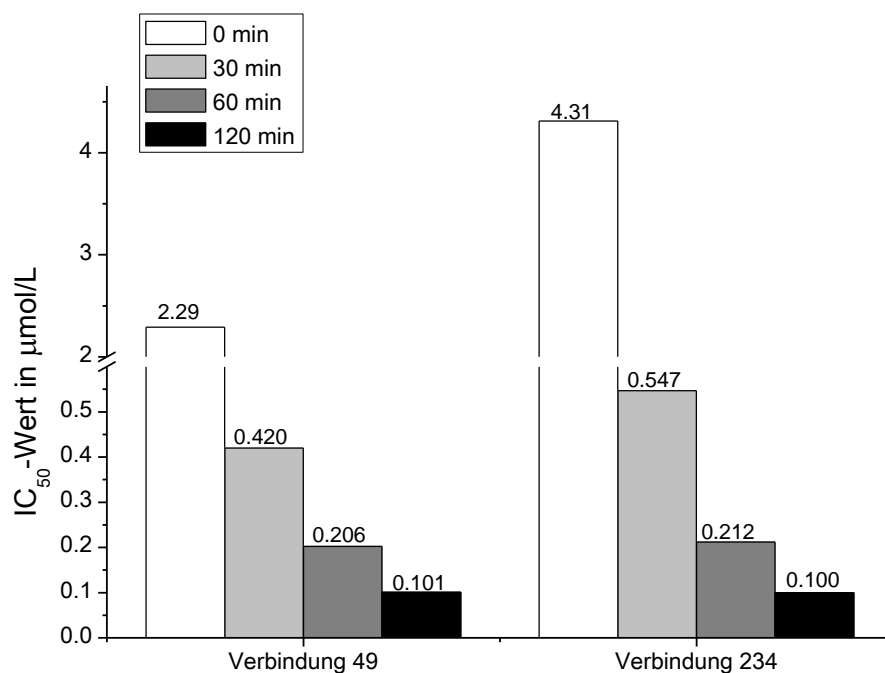


Abbildung 78: Gegenüberstellung der IC_{50} -Werte bei verschiedenen Belichtungszeiten von Inhibitor **49** und Inhibitor **234**.

Verbindung **234** besitzt mit einem IC_{50} von 4.31 $\mu\text{mol/L}$ eine etwa zweifach niedrigere Grundaffinität als der Bipyridin-Komplex **49** (2.29 $\mu\text{mol/L}$). Allerdings zeigt **234** auch einen stärkeren Photoeffekt als **49**. Nach 30 min Belichtung sinkt der IC_{50} auf 547 nmol/L, nach 60 min Belichtung auf 221 nmol/L und

nach 120 min Belichtung auf 100 nmol/L, was in etwa dem absoluten Niveau des Bipyridin-Komplexes **49** entspricht. Relativ gesehen ist der IC₅₀ bei dem tap-Komplex **234** nach 120 min Belichtung 43-fach geringer als bei dem unbelichteten Inhibitor. Der Bipyridin-Komplex zeigt im Vergleich dazu eine 23-fache Senkung des IC₅₀ nach 120 min Belichtung.

Inhibitor **234** wurde bei einer Konzentration von 1.00 µmol/L zusammen mit dem Enzym Trypsin 30 min belichtet. Die belichtete Probe und eine unbelichtete Kontrollprobe wurden auf etwa 10 µmol/L aufkonzentriert und per SDS-Gelelektrophorese gegen einen Standard analysiert (Abbildung 79). In beiden Proben konnte lediglich unmodifiziertes Trypsin identifiziert werden. Grund hierfür könnte die Anwesenheit von Sauerstoff in der Lösung sein, der die Ausbildung des Addukts behindert. Auch ein an den Rutheniumkomplex addierter Tryptophan-Rest konnte durch massenspektrometrische Analyse ebenfalls nicht gefunden werden.

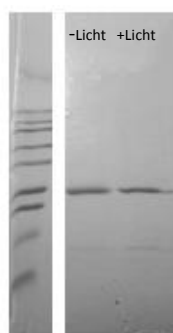


Abbildung 79: Analyse der Trypsin-Proben mittels Gelelektrophorese.

Der Nachweis einer oxidativen Schädigung am Enzym konnte auch hier nicht durch massenspektrometrische Analyse erbracht werden. Alternativ könnte bei Verbindung **49** oder Verbindung **234** ein Oxyblot-Nachweiskit verwendet werden,^[162] oder eine Aminosäuren-Analyse durchgeführt werden.

Das Oxyblot-Nachweiskit besteht aus einer Hydrazinverbindung, die mit Aldehyd- oder Ketonfunktionen reagiert. Normalerweise weisen Enzyme diese Funktionalitäten nicht auf, aber infolge von oxidativen Stress und Fragmentierungsreaktionen können Aldehyde und Ketone gebildet werden.^[39] Somit kann nachgewiesen werden, dass oxidative Schädigung stattgefunden hat, aber nicht an welchen Aminosäuren.

Ein besserer Ansatz wäre die Aminosäurenanalyse. Dabei werden das behandelte Enzym, sowie eine unbelichtete Kontrollprobe basisch hydrolysiert und beide Proben mit einem Fluoreszenzmarker funktionalisiert. Behandelte Probe und Kontrollprobe werden über HPLC analysiert und die relativen Aminosäureanteile verglichen. So können Informationen zu den geschädigten Aminosäuren erhalten werden. Diese Prozedur ist allerdings nicht trivial und eine langwierige Methodenentwicklung geht den eigentlichen Messungen voraus.^[177]

Fazit

Die lichtinduzierte Deaktivierung von Proteinen stellt einen sehr interessanten Ansatz in der Entwicklung hoch potenter und hoch selektiver Inhibitoren dar. An dem Modellsystem Trypsin konnte gezeigt werden, dass ein unter Belichtung Singulett Sauerstoff produzierender Inhibitor eine bis zu 43-fache Verstärkung der Inhibition bewirken kann. Somit würden wesentlich geringere Mengen an Inhibitor für *in vivo* Anwendungen benötigt werden, was im Hinblick auf möglichen Nebenwirkungen ein großer Vorteil wäre. Des Weiteren kann auch der Wirkungsort gezielt gesteuert werden. Ohne Belichtung zeigte der CALI-Inhibitor bei niedrigen Konzentrationen praktisch keinen biologischen Effekt. Durch Belichtung stieg die Potenz des Inhibitors bis zu 43-fach. Durch Zusatz von Natriumazid konnte gezeigt werden, dass Singulett Sauerstoff tatsächlich im aktiven Zentrum des Enzyms gebildet wird. Bei Belichtungszeiten von 120 min schädigte der $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ -Komplex das Enzym unter den evaluierten Bedingungen nur in mikromolaren Konzentrationen. Solch hohe Konzentrationen der hier entwickelten Inhibitoren sind allerdings nicht nötig um bei dem Zielprotein den gewünschten Effekt zu erzielen. Wie gezeigt wurde, konnte Trypsin bereits mit einer Konzentration von 101 nmol/L unter Belichtung zu 50% inhibiert werden.

Kapitel 4

Zusammenfassung und Ausblick

4.1 Serinprotease-Inhibitoren

Serinproteasen sind in verschiedenen physiologischen Prozessen wie Blutgerinnung involviert, aber auch in verschiedenen Tumorprozessen wie Abbau der extrazellulären Matrix, Invasion, Angiogenese und Metastasenbildung. Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene organometallische Verbindungen entwickelt und auf ihre Eigenschaften als Serinprotease-Inhibitor getestet.

Platzierung des Metallzentrums außerhalb des aktiven Zentrums der Serinprotease

Aufbauend auf vorangegangenen Studien wurden die weiteren Möglichkeiten des Bipyridinliganden **47** untersucht. Mit diesem Liganden wurde eine Bibliothek an oktaedrischen Verbindungen synthetisiert und mit dem bereits zuvor erhaltenen Cylopentadienyl-Halbsandwichkomplex **49** verglichen. Dabei zeigte sich, dass die Variation der Ligandensphäre einen geringen Einfluss auf die Potenz des Inhibitors hatte. Von den in dieser Arbeit mit dem Liganden **47** hergestellten Inhibitoren stellten oktaedrische Iridium-Phenylpyridinkomplexe die potenteste Verbindungsklasse dar. Das racemische Gemisch besaß einen IC_{50} von 1.38 $\mu\text{mol/L}$. Zusätzlich wurden die Verbindungen enantiomerenrein synthetisiert und eine geringe Diskriminierung der IC_{50} -Werte der Enantiomere festgestellt (Abbildung 80). Das Λ -Enantiomer inhibierte Trypsin mit einem IC_{50} von 1.01 $\mu\text{mol/L}$ stärker als das Δ -Enantiomer mit 2.91 $\mu\text{mol/L}$. Der relativ geringe Unterschied der IC_{50} -Werte lässt auf eine nicht optimale Ausfüllung des aktiven Zentrums schließen.

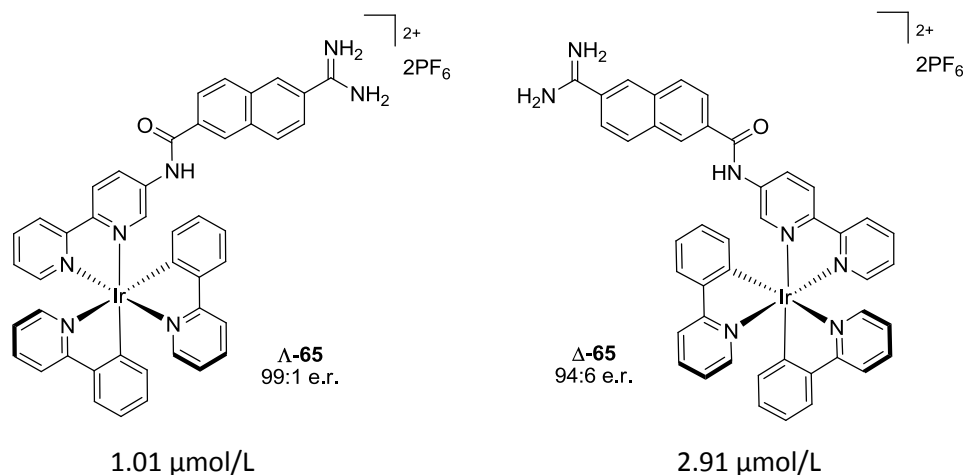


Abbildung 80: Synthese der einantiomerenreinen Iridiumkomplexe $\Delta\text{-65}$ und $\Delta\text{-65}$ unter Verwendung der diastereomeren Vorläufer-Komplexe.

Unter Verwendung des das Dipyrido[3,2-a:2',3'-c]phenazin-Grundgerüsts konnte Inhibitor **73** erhalten werden, der sich in der Potenz für Thrombin deutlich gegenüber den anderen Komplexen absetzte. Allerdings besaß der Komplex eine zu geringe Grundaffinität, so dass die Positionierung des Metalls so weit außerhalb des aktiven Zentrums als nicht ideal erschien um weitere Derivate zu testen (Abbildung 97).

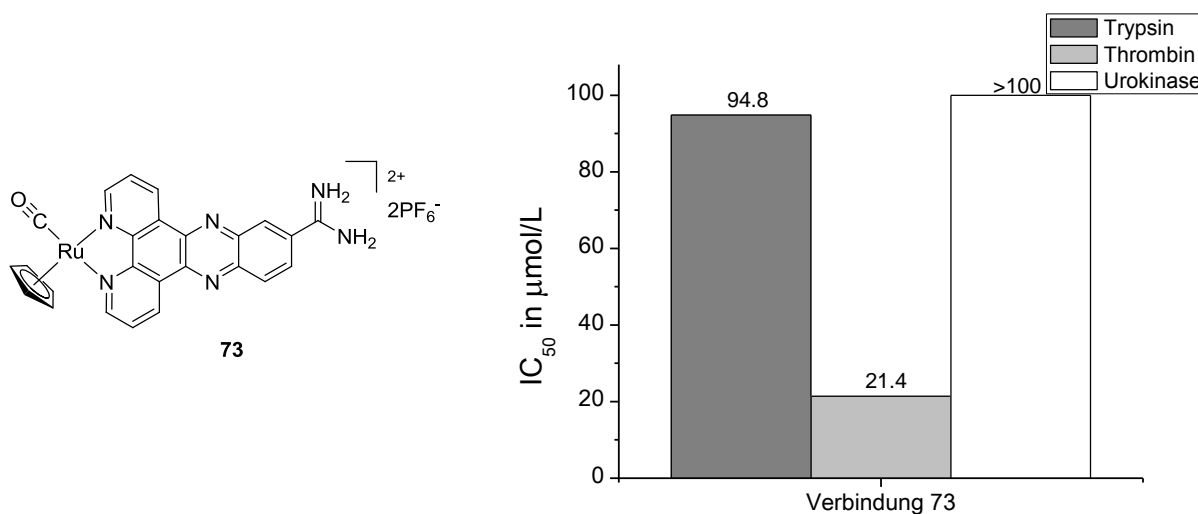


Abbildung 81: Struktur des Inhibitors **73** und zugehörige IC_{50} -Werte gegen Trypsin, Thrombin und Urokinase.

Verwendung kleiner, aromatischer Liganden zur Entwicklung von organometallischen Serinprotease-Inhibitoren

Die nächste Generation organometallischer Serinprotease-Inhibitoren positionierte das Metall wesentlich näher an der S1-Tasche im aktiven Zentrum. Durch Funktionalisierung eines Benzamidins und anschließender Umsetzung zu Cyclopentadienyl-Halbsandwichkomplexen wurde eine kleine Bibliothek an Verbindungen erhalten. Dabei zeigten die Liganden eine höhere Potenz als die Metallkomplexe, wobei der Halbsandwichkomplex **93** eine bessere Selektivität zeigte. Problematisch gestaltete sich bei diesen Verbindungen die Synthese des Amidins. Die erhaltenen Verbindungen waren äußerst polar, so dass teilweise verwendete Salze nicht abgetrennt werden konnten (Abbildung 82).

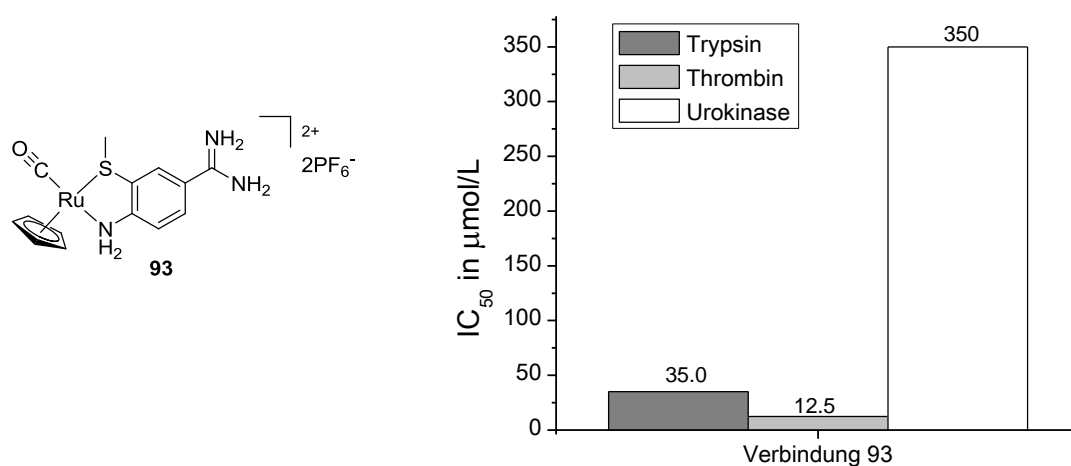


Abbildung 82: Struktur des Inhibitors **93** und zugehörige IC₅₀-Werte gegen Trypsin, Thrombin und Urokinase.

Als weiterer Ligand wurde ein Pyridylindazol erhalten. Zur Synthese des Amidins wurde hier eine andere Strategie gewählt: Zuerst wurde die Nitrilgruppe in ein aktiviertes Oxim überführt, darauf wurde der Metallkomplex dargestellt und anschließend zum biologisch wirksamen Metallkomplex umgesetzt. Auf diese Weise konnte ein Bipyridinkomplex mit etwa knapp siebenfacher Trypsin/Thrombin-Selektivität erhalten werden (Abbildung 83). Auf eine Messung von Urokinase wurde verzichtet, da bei Urokinase der 192Gln-Rest an die Liganden anstoßen würde.

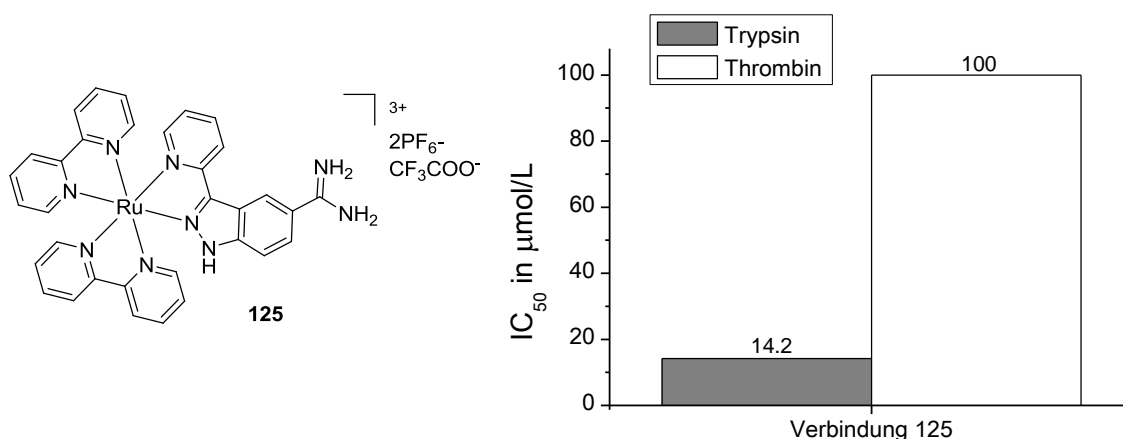


Abbildung 83: Struktur des Inhibitors **125** und zugehörige IC₅₀-Werte gegen Trypsin und Thrombin.

Verwendung von Triazolkomplexen als Thrombininhibitoren

Da sich Amidinverbindungen als nicht sehr praktikabel herausstellten, wurde auf eine Vereinfachung des Inhibitor designs zurückgegriffen. Anstelle der Amidinverbindung wurde eine nicht-basische aromatische Chlorverbindung verwendet, die bei Thrombin an ein Tyrosin in der S1-Tasche bindet. Mittels Click-Chemie wurde eine Bibliothek von verschiedenen Liganden synthetisiert und weiter zu organometallischen Inhibitoren umgesetzt. Insgesamt wurden auf diese Weise 33 potentiell bioaktive Verbindungen erhalten. Als besonders interessante Verbindung wurde **168** identifiziert, die ohne Amidin einen IC₅₀ von 40 μmol/L erreichte und damit in der gleichen Größenordnung wie einige der Amidinverbindungen lag. Durch Vergleich mit dem vollständigen Inhibitorportfolio konnte geschlossen werden, dass speziell die Chlorbenzofurylgruppe für die Positionierung des Metalls in den S'-Taschen verantwortlich ist. Innerhalb der gesamten Bibliothek zeigten sich die Verbindungen mit den Chlorbenzofurylliganden wesentlich potenter als die Komplexe mit dem Chlorbenzyliganden und stellen so eine interessante Leitstruktur mit guter Thrombin/Trypsin-Selektivität dar.

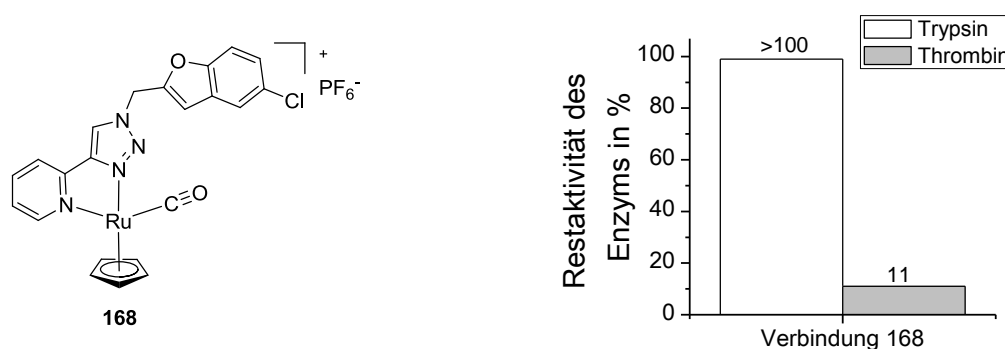


Abbildung 84: Struktur des nicht-basischen Inhibitors **168** mit einem IC₅₀ von 40 μmol/L und zugehörigem Trypsin/Thrombin Selektivitätsvergleich.

Fazit

Serinproteasen scheinen kein besonders geeignetes Zielprotein für die Verwendung von organometallischen Inhibitoren zu sein. Die Enzyme sind sehr starr, was die Ausbildung optimaler Wechselwirkungen erschwert. Des Weiteren tragen Wasserstoffbrücken sehr stark zur Bindungsaffinität bei und die hier vorgestellten Inhibitoren besaßen kaum Möglichkeiten Wasserstoffbrücken auszubilden. Das Design und die Synthese organometallischer Serinprotease-Inhibitoren gestaltete sich so als schwierig. Zum einen gibt es nur wenige Synthesewege zur Einführung der so wichtigen Amidgruppe und zum anderen wurden sehr polare, wasserlösliche Verbindungen erhalten. Werden diese Verbindungen von einer ausgeprägten Hydrathülle umgeben, so muss diese Hülle zuerst abgestreift werden, damit der Inhibitor an das entsprechende Enzym binden kann. Dazu muss eine gewisse Menge Energie aufgebracht werden, die von der Bindungsenergie an das Enzym kompensiert werden muss. Daher eignen sich stark polare Verbindungen nicht so ideal als Enzyminhibitoren. Der Ansatz über Chlorverbindungen gestaltete sich dagegen als vielversprechend, diese Verbindungen waren wesentlich leichter zu handhaben und eine ansonsten langwierige Suche nach einer Leitstruktur konnte in sehr kurzer Zeit durchgeführt werden.

4.2 Chromophor-unterstützte Photodeaktivierung

Unter CALI (Chromophor-unterstützte Photodeaktivierung - engl.: Chromophore assisted light inactivation) versteht man die Verwendung eines Inhibitors, an den ein Chromophor angebracht ist, der unter Belichtung ROS (reactive oxygen species) erzeugt. Wird ein $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ -Komplex verwendet, so entsteht ausschließlich Singulett Sauerstoff und dieser schädigt Aminosäuren auf gut untersuchte Art und Weise. Durch Belichtung konnte der IC_{50} des Inhibitors **49** für Trypsin von 2.29 $\mu\text{mol/L}$ um das 22fache auf knapp 100 nmol/L gesenkt werden. Das tap-Derivat **234** zeigte sogar eine relative 43fache Steigerung, allerdings konnte auch hier ein Absolutwert von 100 nmol erreicht werden (Abbildung 85).

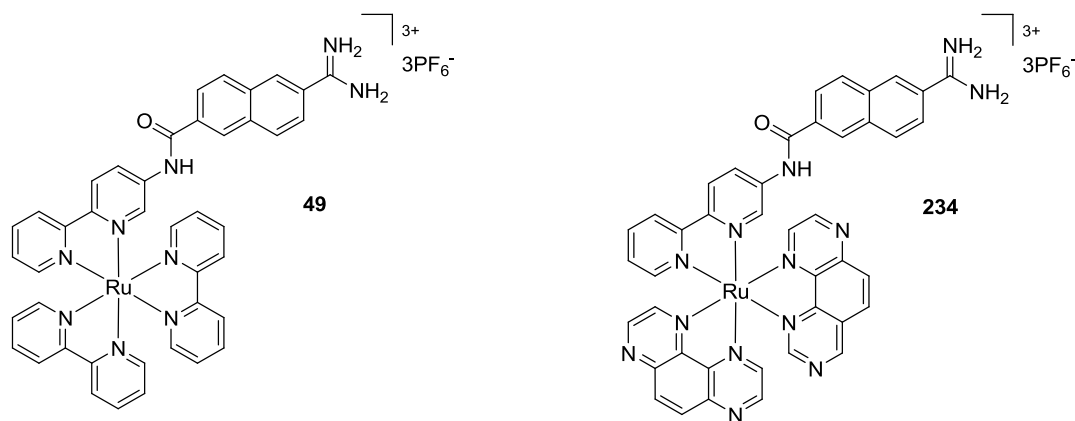


Abbildung 85: Struktur der untersuchte CALI-Inhibitoren **49** und **234**.

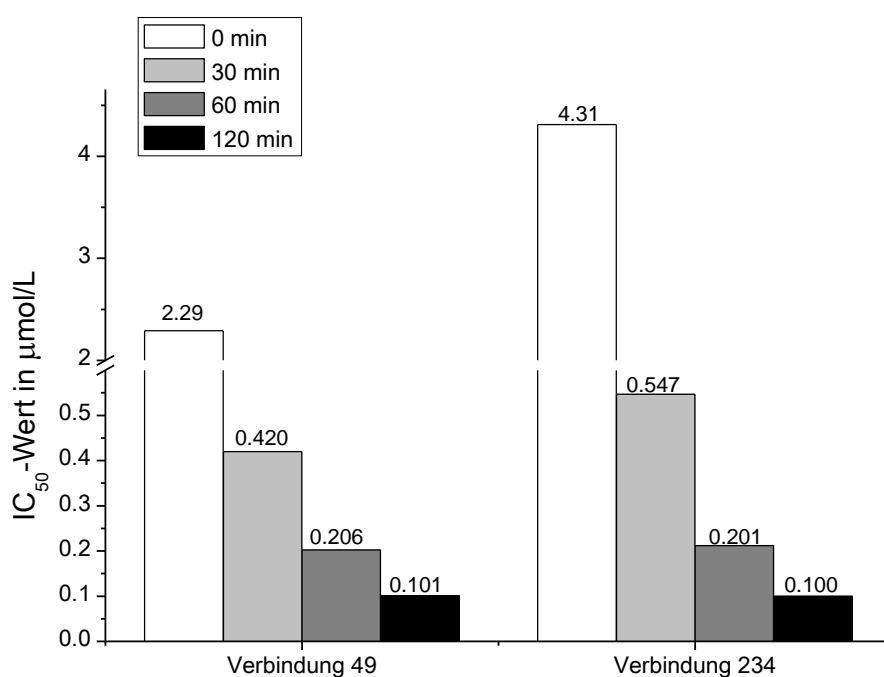


Abbildung 86: Darstellung der IC₅₀-Werte der CALI-Inhibitoren **49** und **234** nach unterschiedlicher Belichtungszeit (0 min, 30 min, 60 min, 120 min).

Fazit

Die CALI-Technik stellt eine interessante Möglichkeit dar, den Wirkungsort des Inhibitors zu steuern. Bei Verwendung mäßig potenter Inhibitoren kann die Potenz durch Belichtung gesteigert werden. Dies hat den Vorteil, dass bei der Applikation geringer Dosen ohne Belichtung keine Wirkung auftritt. Die hier erhaltenen Ergebnisse zeigen das Potential solcher Inhibitoren zwar schon sehr deutlich, allerdings sollte mit Verbindungen, die eine bessere Grundaffinität aufweisen auch Inhibitoren im pmol/L-Konzentrationsbereich erhalten werden. Interessant könnte daher die Anbringung von

funktionellen Gruppen an den Liganden sein, um Wasserstoffbrücken zum Enzym auszubilden und die Grundaffinität weiter zu steigern.

Des Weiteren stellt die Suche nach dem idealen Chromophor eine große Herausforderung dar. Wie gezeigt werden konnte, ist der Tetraazaphenanthren-Komplex zwar ein effizienterer CALI-Inhibitor, absolut gesehen bietet die Verbindung dem Bipyridin-Komplex keine Vorteile. CALI-Inhibitoren sollten neben Serinproteasen auch weitere Enzyme deaktivieren können. Denkbar wäre eine Ausweitung auf Cysteinproteasen, wo der nukleophile Schwefel zum Sulfon oder Sulfoxid oxidiert werden kann. Daneben sollten sich noch weitere Enzyme mit katalytischen Triaden und Dyaden auf Histidin-Basis eignen.

Kapitel 5

Experimenteller Teil

5.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften und Techniken

Sämtliche Reaktionen wurden, sofern nicht anders vermerkt, unter Stickstoffatmosphäre und Verwendung von Septum und Spritze, sowie Schlenk-Technik durchgeführt. Bei sauerstoffempfindlichen Reaktionen wurden die Lösungsmittel vorher mit Stickstoff gespült. Die Mikrowellenreaktionen wurden in speziellen Reaktionsgefäßen mit dem DISCOVER-Mikrowellenreaktor der Firma *CEM GmbH* durchgeführt.

Reagenzien/Lösungsmittel

Die kommerziell erhältlichen Reagenzien und Lösungsmittel wurden ohne weitere Reinigung verwendet. Lösungsmittel für Säulenchromatographie wurden vor der Benutzung durch Destillation gereinigt. Absolute Lösungsmittel wurden nach Standardmethoden getrocknet und vor der Verwendung frisch destilliert. Gase wurden in folgender Reinheit verwendet: Stickstoff 5.0 (99.999%), Kohlenstoffmonoxid 2.3 (99.3%) und Wasserstoff 3.0 (99.9%). Folgende Verbindungen wurden nach Literaturvorschriften synthetisiert: Λ -(S)-**68** und Δ -(S)-**69**,^[117] $[\text{Ru}(\eta^6\text{-C}_6\text{H}_6)\text{Cl}_2]_2$,^[101] $[\text{Ru}(\text{MeCN})_3([\text{9}] \text{aneS}_3)](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$,^[105] $[\text{Ir}(\text{phpy})_2\text{Cl}]_2$,^[107,108] $[\text{Ru}(\text{COD})(\text{MeCN})_2\text{Cl}_2]$,^[137] $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6$,^[125] $[\text{PtCl}_2(\text{DMSO})_2]$,^[161] 2-Pyridyltrimethylstannan.^[179] Folgende Chemikalien wurden von anderen Arbeitsgruppenmitgliedern überlassen: 3,4-Diaminobenzamidin Hydrochlorid,^[119] $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{Cl}_2]$.^[170]

Chromatographische Methoden

Es wurden Aluminium-DC-Fertigplatten Kieselgel 60 F254 der Firma Merck KGaA sowie Macherey-Nagel GmbH & Co. KG verwendet und die Detektion erfolgte mit einer UV-Lampe ($\lambda = 254 \text{ nm}$) oder durch Eigenfärbung der Verbindungen. Chromatographische Reinigung erfolgte bei Raumtemperatur unter Verwendung eines Pressluftüberdrucks. Das verwendete Laufmittel ist in der entsprechenden Versuchsdurchführung aufgelistet. Als stationäre Phase wurde sofern nicht anders vermerkt Kieselgel 60 (Korngröße 0.040 - 0.063 mm) der Firma Merck KGaA verwendet.

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Reinigung der Verbindungen erfolgte bei 50 °C unter Verwendung der LiChroCart® Purospher® Star RP-18e Kartusche mit dem Agilent 1200 Series HPLC-System der Firma *Agilent*. Als Laufmittel wurde MeCN/0.1% TFA in H₂O verwendet. Zuerst wurde die Substanz in möglichst wenig Lösungsmittel gelöst und gefiltert. Analytische Injektionen (5 µL) bei einer Flussrate von 0.5 mL/min wurden benutzt um den geeigneten Gradienten zu finden (10% - 50% MeCN in 40 min). Der Gradient wurde optimiert, bis auch bei Injektionsvolumen von 50 µL eine ausreichende Trennung vorhanden war. Zur Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse wurde das Agilent HPLC-System mit der chiralen Daicel Chiralpak® IA (5 µm) 250 mm x 4.6 mm Chromatographiesäule verwendet.

Kernresonanzspektroskopie

Die NMR-Spektren wurden an den Geräten Avance 300, DRX-400, DRX-500 der Firma *Bruker* bei Raumtemperatur gemessen. Die chemischen Verschiebungen der Signale sind in ppm angegeben und wurden unter Verwendung der Programms TopSpin 3.0 direkt aus dem Spektrum abgelesen. ¹³C-NMR-Spektren wurden breitbandentkoppelt aufgenommen und auf das deuteriumgekoppelte Lösungsmittelsignal kalibriert. Die Verschiebungen der verwendeten Lösungsmittel wurden als interner Standard verwendet.

DMSO: ¹H: δ = 2.50 ppm, ¹³C: δ = 39.52 ppm;

CDCl₃: ¹H: δ = 7.26 ppm, ¹³C: δ = 77.16 ppm;

CD₃OD: ¹H: δ = 3.31 ppm, ¹³C: δ = 49.00 ppm;

CD₃CN: ¹H: δ = 1.94 ppm, ¹³C: δ = 1.32 ppm, 118.26 ppm;

Die ermittelten Kopplungskonstanten sind in Hertz (Hz) angegeben und wurden mit Hilfe des Programms TopSpin 3.0 berechnet. Die angegebene Multiplizität entspricht der Erscheinung des Signals im aufgenommenen Spektrum und nicht der theoretisch zu erwartenden Multiplizität. Die Angabe der Multiplizitäten erfolgt als s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, quin = Quintett, sept = Septett, m = Multiplett und br = breit.

Die Zuordnung der jeweiligen Protonen erfolgte soweit möglich mit Hilfe von Kopplungskonstanten des ¹H-Spektrums, sowie unter Zuhilfenahme von 2D-Experimenten (COSY, HMQC, HMBC). In den Fällen wo keine eindeutige Zuordnung möglich war, sind lediglich die chemischen Verschiebungen angegeben.

Infrarotspektroskopie

Die IR-Spektren wurden mit einem Alpha-P FT-IR Spektrometer der Firma *Bruker* aufgenommen. Die Substanzen wurden als Feststoff oder als Film auf das Gerät aufgetragen und die Auswertung erfolgte durch die zugehörige Software Opus 6.5. Die Lage der Absorptionsbanden ist als Wellenzahl $\tilde{\nu}$ in cm^{-1} angegeben.

Massenspektrometrie

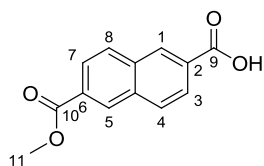
Die Massenspektren wurden durch die Mitarbeiter der massenspektrometrischen Abteilung der Philipps-Universität Marburg an einem LTQ-FT Massenspektrometer der Firma *Thermo Fischer Scientific* aufgenommen. Die Ionenmassen m/z sind in u angegeben.

CD-Spektroskopie

Die CD-Spektren wurden mit einem J-810 CD-Spektropolarimeter der Firma *JASCO* aufgenommen. Der Messbereich betrug 200 nm bis 600 nm bei einer Bandbreite von 1 nm und einer Scangeschwindigkeit von 50 nm/Minute. Als Lösungsmittel wurde Acetonitril verwendet und die Proben wurden bei einer Konzentration von 1 mmol/L gemessen.

5.2. Synthesen

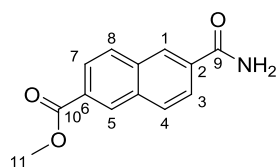
6-Carbomethoxy-2-naphthalincarbonsäure (**51**)



Dimethylnaphthalin-2,6-dicarboxylat (**50**) (5.01 g, 20.5 mmol) wurde in 1,4-Dioxan (50 mL) suspendiert und bei 85 °C gerührt bis eine klare Lösung entstand. Zu der Lösung wurde KOH in Methanol (10.0 mL, 2.16 mol/L) tropfenweise zugegeben. Die Suspension wurde 5 h bei 85 °C gerührt, anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt und filtriert. Der Rückstand wurde mit Diethylether gewaschen, in Wasser gelöst und die Lösung filtriert. Das Filtrat wurde mit Salzsäure (2 mol/L) versetzt. Der entstandene Feststoff wurde filtriert und im Vakuum getrocknet. 6-Carbomethoxy-2-naphthalincarbonsäure (**51**) wurde als weißer Feststoff erhalten (3.64 g, 15.8 mmol, 77%).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 13.29 (s, 1 H, COOH), 8.70 (s, 1H, H-1), 8.67 (s, 1H, H-5), 8.23 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H-3, H-7), 8.05 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H-8, H-4), 3.93 (s, 3H, OCH₃). **HRMS** (ESI): C₁₃H₉O₄ [M - H]⁻ berechnet: 229.0506, gefunden: 229.0511.

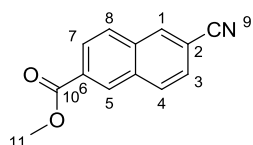
6-Carbamyl-2-naphthalincarbonsäuremethylester (**52**)



6-Carbomethoxy-2-naphthalincarbonsäure (**51**) (3.20 g, 13.8 mmol) wurde in Toluol (50 mL) suspendiert und mit Thionylchlorid (4.3 mL, 20.0 mmol) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 4 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Es wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan (absolutiert, 50 mL) suspendiert und es wurde bei Raumtemperatur 15 min Ammoniak-Gas eingeleitet. Die Suspension wurde noch weitere 30 min gerührt, der Feststoff wurde filtriert und anschließend mit Wasser und Dichlormethan (je 50 mL) gewaschen. Der Rückstand wurde im Vakuum getrocknet und 6-Carbamyl-2-naphthalincarbonsäuremethylester (**52**) als weißer Feststoff erhalten (3.10 g, 13.5 mmol, 99%).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 8.68 (s, 1H, H-1), 8.55 (s, 1H, H-5), 8.21 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H-3, H-7), 8.17 (d, J = 8.7 Hz, 1H, H-4), 8.05 (m, 2H, H-8, NH), 7.59 (s, 1H, NH) 3.93 (s, 3H, OCH₃). **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 167.6, 166.2, 134.3, 134.0, 133.2, 130.2, 129.5, 129.4, 128.2, 127.5, 125.3, 125.3, 52.3 (C-11). **HRMS** (ESI): C₁₃H₁₂NO₃ [M + H]⁺ berechnet: 230.0812, gefunden: 230.0810.

6-Cyano-2-naphthalincarbonsäuremethylester (**53**)

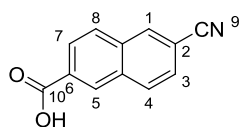


6-Carbamyl-2-naphthalincarbonsäuremethylester (**52**) (3.00 g, 1.31 mmol) wurde in 1,4-Dioxan (100 mL) suspendiert und mit Pyridin (4.2 mL, 52.4 mmol) versetzt. Die Suspension wurde auf 0 °C abgekühlt und Trifluoressigsäureanhydrid (5.5 mL, 39.3 mmol) wurde tropfenweise zugegeben. Es wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 16 h gerührt. Anschließend wurde das

Reaktionsgemisch in Wasser gegossen, mit Salzsäure (2 mol/L) angesäuert und mit Ethylacetat (3x20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. 6-Cyano-2-naphthalincarbonsäuremethylester (**53**) als weißer Feststoff erhalten (1.94 g, 9.16 mmol, 70%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.65 (s, 1H, H-1), 8.28 (s, 1H, H-5), 8.16 (dd, J = 8.5, 1.5 Hz, 1H, H-7), 8.05 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H-4), 7.96 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H-8), 7.69 (dd, J = 8.5, 1.5 Hz, 1H, H-3), 4.01 (s, 3 H, OCH₃).

6-Cyano-2-naphthalincarbonsäure (**54**)

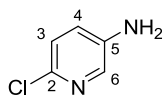


6-Cyano-2-naphthalincarbonsäuremethylester (**53**) wurde (1.94 g, 9.18 mmol) in einem Gemisch aus Tetrahydrofuran und Wasser (1:1, 40 mL) gelöst und mit Lithiumhydroxid-Monohydrat (1.99 g, 46.0 mmol) versetzt. Die Lösung

wurde 90 min bei Raumtemperatur gerührt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in Salzsäure (60 mL, 1 mol/L) gelöst. Es wurde mit Ethylacetat (3x250 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und 6-Cyano-2-naphthalincarbonsäure (**54**) wurde als weißer Feststoff erhalten (1.71 g, 8.68 mmol, 95%).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 13.38 (s, 1H, COOH), 8.72 (s, 1H, H-5), 8.68 (s, 1H, H-1), 8.35 (d, J = 8.5 Hz, 1H, H-4), 8.17 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H-8), 8.11 (dd, J = 8.6, 1.4 Hz, 1H, H-7), 7.89 (dd, J = 8.5, 1.4 Hz, 1 H, H-3). **HRMS** (EI): C₁₂H₇NO₂ [M]⁺ berechnet: 197.0477, gefunden: 197.0484.

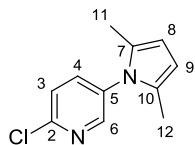
5-Amino-2-chlorpyridin (**56**)



2-Chlor-5-nitropyridin (**55**) (2.62 g, 16.5 mmol) wurde in Ethylacetat (300 mL) gelöst und mit Zinn(II)chlorid-Dihydrat (17.7 g, 85.2 mmol) versetzt. Die Lösung wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde in

Natronlauge (10%ig, 500 mL) gegossen, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3x100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung (50 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. 5-Amino-2-chlorpyridin (**56**) wurde als hellgelber Feststoff erhalten (2.06 g, 16.0 mmol, 97%).

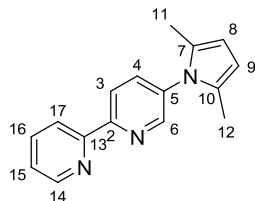
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.85 (d, J = 3.0 Hz, 1H, H-6), 7.08 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H-3), 6.96 (dd, J = 8.4, 3.0 Hz, 1H, H-4). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 141.7 (C-2), 140.2 (C-5), 136.3 (C-6), 124.9 (C-3), 124.1 (C-4). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3318, 3198, 1651, 1589, 1573, 1466, 1410, 1291, 1145, 1128, 1101, 1017, 887, 850, 829, 739, 651, 512. **HRMS** (APCI): C₅H₆ClN [M + H]⁺ berechnet: 129.0214, gefunden: 129.0214.

1-(2-Chlorpyridin-5-yl)-2,5-dimethyl-1*H*-pyrrol (**57**)

5-Amino-2-chlorpyridin (**56**) (2.00 g, 15.6 mmol) wurde in Toluol (30 ml) gelöst und mit 2,5-Hexandion (2.2 mL, 19.0 mmol), *p*TsOH (30.0 mg, 0.16 mmol) sowie Molsieb (4Å) versetzt. Die Lösung wurde 2 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt.

Es wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung (10.0 ml, 2 mol/L) sowie mit Wasser (3x10 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. 1-(2-Chlorpyridin-5-yl)-2,5-dimethyl-1*H*-pyrrol (**57**) wurde als brauner Feststoff erhalten (2.37 g, 11.5 mmol, 74%).

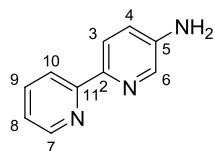
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.30 (dd, J = 2.7, 0.6 Hz, 1H, H-6), 7.55 (dd, J = 8.4, 2.7 Hz, 1H, H-4), 7.46 (dd, J = 8.4, 0.6 Hz, 1H, H-3), 5.95 (s, 2H, H-8, H-9), 2.05 (s, 6H, H-11, H-12). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 150.4 (C-2), 149.2 (C-4), 138.3 (C-6), 134.7 (C-5), 128.9 (C-3), 124.7 (C-10, C-7), 107.2 (C-8, C-9), 13.0 (C-11, C-12). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 2919, 1560, 1523, 1467, 1399, 1325, 1131, 1107, 993, 838, 765, 647, 560, 506, 424. **HRMS** (APCI): C₁₁H₁₂ClN₂ [M + H]⁺ berechnet: 207.0684, gefunden: 207.0684.

1-(2,2'-Bipyridin-5-yl)-2,5-dimethyl-1*H*-pyrrol (**58**)

Eine Lösung von 2-Pyridylzinkbromid in Tetrahydrofuran (0.5 mmol/L, 14.9 mL, 7.45 mmol) wurde mit [Pd₂dba₃] (93.1 mg, 102 μ mol), Tri-*tert*-butylphosphin (82.3 mg, 407 μ mol) sowie 1-(2-Chlorpyridin-5-yl)-2,5-dimethyl-1*H*-pyrrol (**57**) (1.40 g, 6.77 mmol) versetzt und 16 h unter

Rückfluss zum Sieden erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und EDTA-Lösung (5.20 g, in 150 ml Wasser) sowie Natriumhydrogencarbonat-Lösung (gesättigt) bis pH 9 hinzugegeben. Es wurde mit Dichlormethan extrahiert (3x100 mL), die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Hexan/Ethylacetat/Triethylamin 3:1:0.1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. 1-(2,2'-Bipyridin-5-yl)-2,5-dimethyl-1*H*-pyrrol (**58**) wurde als gelber Feststoff erhalten (1.11 g, 4.45 mmol, 66%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.71 (ddd, J = 4.8, 1.7, 1.0 Hz, 1H, H-14), 8.58 (dd, J = 2.5, 0.6 Hz, 1H, H-6), 8.53 (dd, J = 8.4, 0.6 Hz, 1H, H-3), 8.44 (dd, J = 8.0, 1.0 Hz, 1H, H-17), 7.86 (dd, J = 7.7, 1.8 Hz, 1H, H-16), 7.69 (dd, J = 8.4, 2.5 Hz, 1H, H-4), 7.35 (ddd, J = 7.5, 4.7, 1.1 Hz, 1H, H-15), 5.97 (s, 2H, H-8, H-9), 2.09 (s, 6H, H-11, H-12). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 155.5, 155.4, 149.5, 148.5, 137.2, 136.4, 135.7, 129.1, 124.1, 121.3, 106.9 (C-8, C-9), 13.2 (C-11, C-12). **HRMS** (ESI): C₁₆H₁₆N₃ [M + H]⁺ berechnet: 250.1339, gefunden: 250.1138.

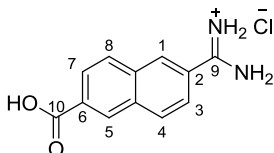
5-Amino-2,2'-bipyridin (**59**)

1-(2,2'-Bipyridin-5-yl)-2,5-dimethyl-1*H*-pyrrol (**58**) (1.00 g, 4.00 mmol) wurde in einem Gemisch aus Ethanol und Wasser (3:1, 12.6 mL) gelöst und mit Hydroxylamin-Hydrochlorid (2.78 g, 40.0 mmol) sowie Triethylamin (1.1 mL, 8.0 mmol) versetzt. Die Lösung wurde 20 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt, auf Raumtemperatur abgekühlt und anschließend in Salzsäure (1 mol/L, 18.0 mL) bei 0 °C gegossen. Es wurde mit Diethylether gewaschen und der pH-Wert durch Zugabe von NaOH-Lösung (5 mol/L) auf pH 10 eingestellt. Anschließend wurde mit Dichlormethan (3x50 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. 5-Amino-2,2'-bipyridin (**59**) wurde als gelber Feststoff erhalten (638 mg, 3.73 mmol, 93%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.60 (ddd, J = 4.8, 1.9, 1.0 Hz, 1H, H-7), 8.24 (dd, J = 8.8, 1.1 Hz, 1H, H-10), 8.20 (dd, J = 8.5, 0.7 Hz, 1H, H-3), 8.15 (dd, J = 2.8, 0.7 Hz, 1H, H-6), 7.75 (ddd, J = 7.6, 1.9 Hz, 1H, H-9), 7.21 (ddd, J = 7.6, 4.8, 1.1 Hz, 1H, H-8), 7.10 (dd, J = 8.5, 2.8 Hz, 1H, H-4), 3.85 (br, 2 H, NH).

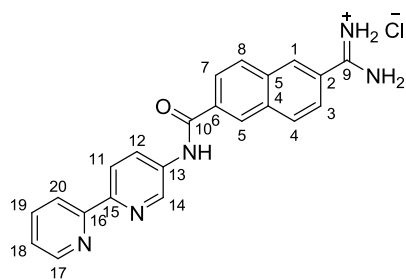
¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 156.6, 149.1, 147.2, 143.0, 136.9, 136.7, 122.6, 122.2, 121.8, 120.1.

HRMS (ESI): C₁₃H₁₀N [M + H]⁺ berechnet: 172.0869, gefunden: 172.0873.

6-Amidin-2-naphthalincarbonsäure-Hydrochlorid (**60**)

6-Cyano-2-naphthalincarbonsäure (**54**) (2.00 g, 10.2 mmol) wurde in Tetrahydrofuran (absolutiert, 90 mL) suspendiert und auf 0 °C abgekühlt. Die Suspension wurde mit LiHMDS (1.00 mol/L in Hexan, 40.7 mL) tropfenweise versetzt und 40 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde auf 0 °C abgekühlt und Salzsäure (6 mol/L, 10.5 mL) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 15 min gerührt und der Niederschlag zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C). Der Rückstand wurde mit Wasser sowie Tetrahydrofuran gewaschen und im Vakuum getrocknet. 6-Amidin-2-naphthalincarbonsäure-Hydrochlorid (**60**) wurde als weißer Feststoff erhalten (2.29 g, 9.14 mmol, 90%).

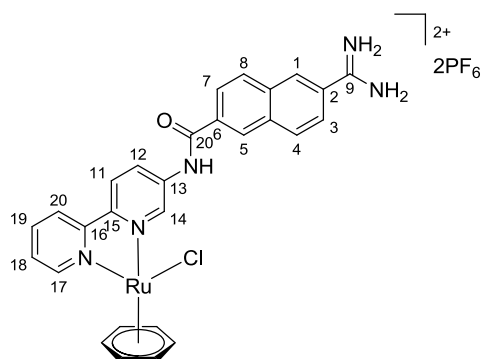
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 13.30 (br s, 1H, OH), 9.69 (br s, 2H, NH₂), 9.48 (br s, 2H, NH₂), 8.72 (s, 1H, H-5), 8.61 (s, 1H, H-1), 8.35 (d, J = 8.8 Hz, 1H, H-4), 8.18 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H-8), 8.11 (dd, J = 8.6, 1.6 Hz, 1H, H-7), 7.93 (dd, J = 8.6, 1.6 Hz, 1H, H-3). **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 167.0, 165.7, 134.2, 133.6, 130.7, 130.2, 130.1, 129.5, 129.2, 127.4, 126.6, 124.5. **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3163, 2920, 1612, 1578, 1520, 1493, 1468, 1381, 1360, 1148, 921, 908, 826, 787, 767, 729, 717, 605, 590, 556, 483. **HRMS** (ESI): C₁₂H₁₁N₂O₂ [M - Cl]⁺ berechnet: 215.0815, gefunden: 215.0815.

6-(*N*-2,2'-Bipyridin-5-yl-carbamyl)-2-naphthalincarboxamidin (**47**)

6-Amidin-2-naphthalincarbonsäure-Hydrochlorid (**60**) (2.20 g, 8.78 mmol) wurde in Toluol (150 mL) suspendiert und mit Thionylchlorid (2.7 mL, 37.2 mmol) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 4 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Es wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan

(40 mL) suspendiert und 5-Amino-2,2'-bipyridin (**59**) (860 mg, 5.03 mmol) wurde hinzugefügt. Die Suspension wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in möglichst wenig Methanol aufgenommen und durch Zugabe von Diethylether ausgefällt. Der Feststoff wurde filtriert und im Vakuum getrocknet. 6-(*N*-2,2'-Bipyridin-5-yl-carbamyl)-2-naphthalincarboxamidin (**47**) wurde als beiger Feststoff erhalten (845 mg, 2.09 mmol, 24%).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11.00 (s, 1H, NH), 9.53 (br, 2 H, NH₂), 9.29 (br, 2H, NH₂) 9.13 (s, 1H, H-14), 8.77 (s, 1H, H-5), 8.70 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H, H-17), 8.58 (s, 1H, H-1), 8.46 (m, 2H, H-19, H-11), 8.40 (dt, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H, H-20), 8.36 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, H-7), 8.28 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, H-4), 8.20 (dd, *J* = 8.6, 1.6 Hz, 1H, H-8), 8.00 (m, 1H, H-18), 7.92 (dd, *J* = 8.6, 1.7 Hz, 1H H-3), 7.48 (dd, *J* = 6.8, 5.4 Hz, 1H, H-12). **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 165.7, 158.4, 158.1, 154.6, 149.0, 141.3, 137.9, 136.6, 134.3, 134.1, 133.1, 129.9, 129.5, 129.3, 128.2, 127.5, 126.0, 125.9, 124.5, 123.9, 120.7, 120.3. **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3043, 1674, 1601, 1524, 1481, 1450, 1371, 1280, 1239, 1167, 1088, 1008, 955, 902, 850, 819, 789, 751, 716, 612, 562, 471, 444, 400. **HRMS** (ESI): C₂₂H₁₈N₅O [M - Cl]⁺ berechnet: 368.1507, gefunden: 368.1506.

Rutheniumkomplex **62**

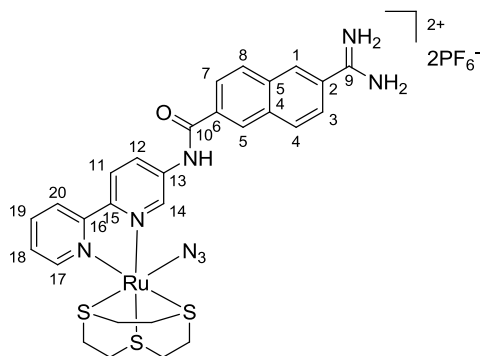
Der Ligand **47** (30.0 mg, 81.6 μ mol) wurde in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol (6.0 mL, 1:1) gelöst und mit [Ru(η^6 -C₆H₆)Cl₂]₂^[101] (30.6 mg, 61.2 μ mol) versetzt. Die braune Suspension wurde 16 h bei 50 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in möglichst

wenig Wasser aufgenommen und der Komplex durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der Feststoff wurde über eine Sepak C18-Säule (500 mg, 6 mL, 3x5 mL H₂O → 3x5 mL Acetonitril) von den Salzen abgetrennt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in möglichst wenig Acetonitril gelöst und durch Zugabe von Diethylether ausgefällt. Der Feststoff

wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C) und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **62** wurde als brauner Feststoff erhalten (51.0 mg, 58.4 µmol, 72%).

¹H-NMR (300 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 9.93 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, H-14), 9.60 (s, 1H, NH), 9.38 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H, H-17), 8.74 (s, 1H, H-1), 8.57 (dd, *J* = 8.9, 2.2 Hz, 1H, H-3), 8.48 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H, H-5), 8.30 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H, H-4, H-11), 8.24 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H, H-8, H-7), 8.20 (dd, *J* = 6.6, 1.7 Hz, 1H, H-19), 8.14 (dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz, 1H, H-20), 7.92 (br s, 2H, NH₂), 7.85 (dd, *J* = 8.7, 1.9 Hz, 1H, H-12), 7.86 (br s, 2H, NH₂), 7.64 (ddd, *J* = 7.3, 5.6, 1.4 Hz, 1H, H-18), 6.05 (s, 6H, C₆H₆). **¹³C-NMR** (75 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 167.7, 166.5, 166.4, 156.5, 155.5, 150.5, 147.7, 140.7, 139.2, 135.8, 134.7, 131.6, 131.0, 130.8, 130.3, 129.4, 127.6, 127.8, 125.3, 124.8, 123.8, 118.4, 88.2 (C₆H₆). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 2923, 1679, 1607, 1532, 1469, 1435, 1380, 1235, 1190, 1101, 1024, 1002, 828, 633, 553, 476. **HRMS** (ESI): C₂₈H₂₄ClF₆N₅OPRu [M - PF₆]⁺ berechnet: 728.0353, gefunden: 728.0368.

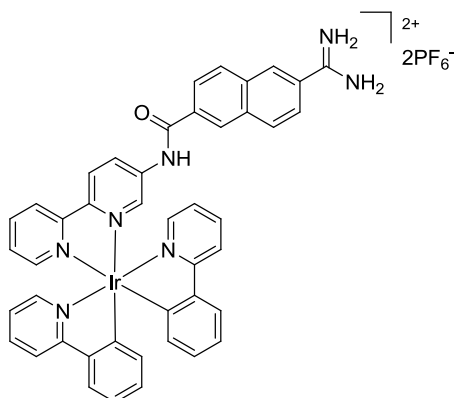
Rutheniumkomplex **64**



Der Ligand **47** (10.0 mg, 27.2 µmol) wurde in DMF (6.0 mL) gelöst und mit [Ru([9]aneS₃)(MeCN)₃](CF₃SO₃)₂^[105] (22.8 mg, 36.6 µmol) versetzt. Die gelbe Suspension wurde 16 h bei 90 °C gerührt. Es wurde Natriumazid (1.8 mg, 27.2 µmol) hinzugegeben und 5 h bei 95 °C gerührt. Anschließend wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im

Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in möglichst wenig Wasser aufgenommen und der Komplex durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der Feststoff wurde über eine Sepak C18-Säule (500 mg, 6 mL, 3x5 mL H₂O → 3x5 mL Acetonitril) von den Salzen abgetrennt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in möglichst wenig Acetonitril gelöst und durch Zugabe von Diethylether ausgefällt. Der Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C) und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **64** wurde als brauner Feststoff erhalten (8.9 mg, 9.06 µmol, 33%).

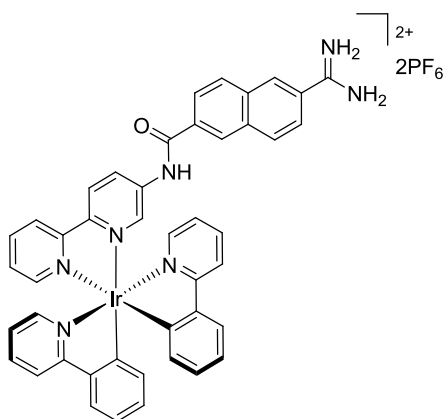
¹H-NMR (400 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 9.60 (dd, *J* = 3.6, 2.4 Hz, 1H, H-14), 9.03 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H, H-17), 8.71 – 8.78 (m, 2H), 8.62 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 8.58 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H), 8.35 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 8.30 (dd, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.11 – 8.26 (m, 3H), 7.95 (dd, *J* = 8.3, 1.7 Hz, 1H), 7.60 – 7.68 (m, 1H), 2.69 – 3.10 (m, 12H). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 2923, 2099, 2051, 1673, 1604, 1580, 1528, 1466, 1376, 1291, 1231, 1022, 908, 838, 745, 554, 474.

Iridiumkomplex **65**

Der Ligand **47** (10.0 mg, 27.2 μmol) wurde in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol (1.0 mL, 4:1) gelöst und mit $[\text{Ir}(\text{phpy})_2\text{Cl}]_2^{[107, 108]}$ (16.0 mg, 14.0 μmol) versetzt. Die gelbe Suspension wurde 16 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/

Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung 50:3:1). Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit, der Rückstand in möglichst wenig Wasser aufgenommen und durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der Feststoff wurde über eine Sepak C18-Säule (500 mg, 6 mL, 3x5 mL $\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3 \times 5 \text{ mL}$ Acetonitril) von den Salzen abgetrennt und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Iridiumkomplex **65** wurde als gelber Feststoff erhalten (15.6 mg, 13.4 μmol , 50%).

^1H -NMR (400 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 11.18 (s, 1H, NH), 9.49 (br s, 2H, NH_2), 9.05 (br s, 2H, NH_2), 8.91 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 8.77 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.73 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.50 – 8.56 (m, 3H), 8.21 – 8.32 (m, 5H), 8.01 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.88 – 7.97 (m, 5H), 7.82 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.75 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 7.62 – 7.66 (m, 2H), 7.17 – 7.22 (m, 2H), 6.89 – 7.09 (m, 3H), 6.90 (t, J = 7.1 Hz, 1H), 6.21 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 6.17 (d, J = 7.4 Hz, 1H). **^{13}C -NMR** (100 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 167.1, 166.8, 165.9, 165.4, 162.3, 155.5, 150.3, 150.1, 149.9, 149.5, 148.9, 143.7, 141.8, 139.9, 138.74, 138.71, 133.9, 133.7, 133.1, 130.2, 129.9, 129.3, 129.2, 128.4, 127.8, 127.5, 125.8, 125.3, 125.0, 124.8, 124.2, 123.9, 123.8, 122.2, 120.0. **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3046, 1681, 1606, 1583, 1534, 1472, 1379, 1314, 1234, 1026, 839, 760, 557, 480. **HRMS** (ESI): $\text{C}_{44}\text{H}_{34}\text{IrN}_7\text{O}$ $[\text{M} - 2\text{PF}_6]^+$ berechnet: 869.2451, gefunden: 869.2211.

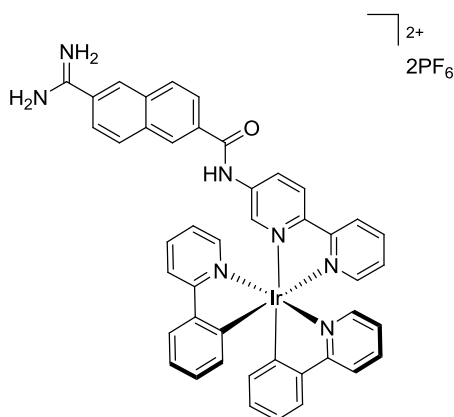
Iridiumkomplex **Λ -65**

Der Ligand **47** (15.0 mg, 40.8 μmol) wurde in Acetonitril (1.5 mL) suspendiert und mit Λ -(S)-**68**^[117] (19.5 mg, 27.2 μmol) sowie Trifluoressigsäure (10.6 μL , 140 μmol) versetzt. Die gelbe Suspension wurde im Überdruckgefäß mit Schraubverschluss 2 h auf 115 °C erhitzt. Es wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Reaktionsgemisch wurde säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung 50:3:1). Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum vom Lösungsmittel

befreit, der Rückstand in möglichst wenig Wasser aufgenommen und durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der Feststoff wurde über eine Sepak C18-Säule (500 mg, 6 mL, 3x5 mL H₂O → 3x5 mL Acetonitril) von den Salzen abgetrennt und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Iridiumkomplex **Δ-65** wurde als gelber Feststoff erhalten (19.8 mg, 17.1 μmol, 42%).

¹H-NMR (400 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 11.18 (s, 1H, NH), 9.49 (br s, 2H, NH₂), 9.05 (br s, 2H, NH₂), 8.91 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 8.77 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.73 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.50 – 8.56 (m, 3H), 8.21 – 8.32 (m, 5H), 8.01 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.88 – 7.97 (m, 5H), 7.82 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.62 – 7.66 (m, 2H), 7.17 – 7.22 (m, 2H), 6.89 – 7.09 (m, 3H), 6.90 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 6.21 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 6.17 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H). **¹³C-NMR** (100 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 167.1, 166.8, 165.9, 165.4, 162.3, 155.5, 150.3, 150.1, 149.9, 149.5, 148.9, 143.7, 141.8, 139.9, 138.74, 138.71, 133.9, 133.7, 133.1, 130.2, 129.9, 129.3, 129.2, 128.4, 127.8, 127.5, 125.8, 125.3, 125.0, 124.8, 124.2, 123.9, 123.8, 122.2, 120.0. **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3046, 1681, 1606, 1583, 1534, 1472, 1379, 1314, 1234, 1026, 839, 760, 557, 480. **HRMS** (ESI): C₄₄H₃₄IrN₇O [M - 2PF₆]⁺ berechnet: 869.2451, gefunden: 869.2211. Das relative Enantiomerenverhältnis der Komplexe **Δ-65** sowie **Λ-65** wurde mittels chiraler HPLC bestimmt. **CD** (Δε [L mol⁻¹ cm⁻¹]; Acetonitril): 286 nm (–32), 323 nm (+36), 331 nm (+24), 338 nm (+34), 406 (–9). **HPLC**: Daicel Chiralpak® IA (5 μm) 250 mm x 4.6 mm, 0.7 mL min⁻¹, 40%Acetonitril in Wasser (0.1% Trifluoressigsäure) → 60%Acetonitril in Wasser (0.1% Trifluoressigsäure; 20 min) → 60%Acetonitril in Wasser (0.1% Trifluoressigsäure; isokratisch, 35 min), 50 °C, *t_R* (**Δ-65**) = 33.3 min.

Iridiumkomplex **Δ-65**



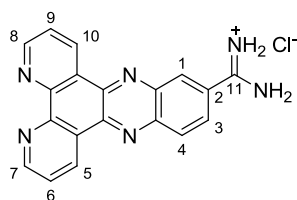
Der Ligand **47** (15.0 mg, 40.8 μmol) wurde in Acetonitril (1.5 mL) suspendiert und mit **Λ-(S)-69** (19.5 mg, 27.2 μmol) sowie Trifluoressigsäure (10.6 μL, 140 μmol) versetzt. Die gelbe Suspension wurde im Überdruckgefäß mit Schraubverschluss 2 h auf 115 °C erhitzt. Es wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Reaktionsgemisch säulenchromatographisch gereinigt (MeCN/H₂O/ges. Kaliumnitrat-Lösung 50:3:1). Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum vom Lösungsmittel

befreit, der Rückstand in möglichst wenig Wasser aufgenommen und durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der Feststoff wurde über eine Sepak C18-Säule (500 mg, 6 mL, 3x5 mL H₂O → 3x5 mL Acetonitril) von den Salzen abgetrennt und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Iridiumkomplex **Δ-65** wurde als gelber Feststoff erhalten (14.5 mg, 10.4 μmol,

36%). Das relative Enantiomerenverhältnis der Komplexe Δ -**65** sowie Λ -**65** wurde mittels chiraler HPLC bestimmt.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 11.18 (s, 1H, NH), 9.49 (br s, 2H, NH_2), 9.05 (br s, 2H, NH_2), 8.91 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 8.77 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.73 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.50 – 8.56 (m, 3H), 8.21 – 8.32 (m, 5H), 8.01 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.88 – 7.97 (m, 5H), 7.82 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.75 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 7.62 – 7.66 (m, 2H), 7.17 – 7.22 (m, 2H), 6.89 – 7.09 (m, 3H), 6.90 (t, J = 7.1 Hz, 1H), 6.21 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 6.17 (d, J = 7.4 Hz, 1H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 167.1, 166.8, 165.9, 165.4, 162.3, 155.5, 150.3, 150.1, 149.9, 149.5, 148.9, 143.7, 141.8, 139.9, 138.74, 138.71, 133.9, 133.7, 133.1, 130.2, 129.9, 129.3, 129.2, 128.4, 127.8, 127.5, 125.8, 125.3, 125.0, 124.8, 124.2, 123.9, 123.8, 122.2, 120.0. **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3046, 1681, 1606, 1583, 1534, 1472, 1379, 1314, 1234, 1026, 839, 760, 557, 480. **HRMS** (ESI): $\text{C}_{44}\text{H}_{34}\text{IrN}_7\text{O}$ [$\text{M} - 2\text{PF}_6$] $^+$ berechnet: 869.2451, gefunden: 869.2211. **CD** ($\Delta\epsilon$ [$\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$]; Acetonitril): 284 nm (+18), 322 nm (-22), 331 nm (-13), 342 nm (-31), 408 (-8). **HPLC**: Daicel Chiralpak[®] IA (5 μm) 250 mm x 4.6 mm, 0.7 mL min^{-1} , 40%Acetonitril in Wasser (0.1% Trifluoressigsäure) \rightarrow 60%Acetonitril in Wasser (0.1% Trifluoressigsäure; 20 min) \rightarrow 60%Acetonitril in Wasser (0.1% Trifluoressigsäure; isokratisch, 35 min), 50 $^\circ\text{C}$, t_R (Δ -**65**) = 32.5 min.

Dipyrido[3,2-a:2',3'-c]phenazin-11-amidin-Hydrochlorid (**72**)

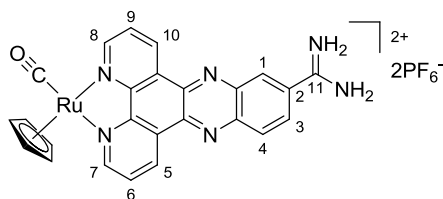


3,4-Diaminobenzamidin-Hydrochlorid^[119] (**71**) (500 mg, 2.71 mmol) wurde in Ethanol (25 mL) suspendiert und mit 1,10-Phenanthrolin-5,6-dion (593 mg, 2.71 mmol) versetzt. Die beige Suspension wurde 3 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde

auf Raumtemperatur abgekühlt und zentrifugiert (4000 rpm, 4 $^\circ\text{C}$). Der Rückstand wurde mit Ethanol und Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet. Dipyrido[3,2-a:2',3'-c]phenazin-11-amidin-Hydrochlorid (**72**) wurde als beiger Feststoff erhalten (973 mg, 2.68 mmol, 99%).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 9.63 (br s, 4H, $2\times\text{NH}_2$), 9.54 (dd, J = 8.1, 1.8 Hz, 1H, H-10/H-5), 9.49 (dd, J = 8.1, 1.8 Hz, 1H, H-5/H-10), 9.25 (dt, J = 4.4, 1.7 Hz, 2H, H-7, H-8), 8.93 (d, J = 1.8 Hz, 1H, H-1), 8.59 (dd, J = 8.9, 1H, H-4), 8.33 (dd, J = 8.9, 2.2 Hz, 1H, H-3), 7.98 (ddd, J = 8.1, 4.5, 2.0 Hz, 2H, H-6, H-9). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 2978, 2923, 1764, 1649, 1507, 1432, 1370, 1280, 1245, 1145, 1111, 1039, 889, 846, 759, 436. **HRMS** (ESI): $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{N}_6$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ berechnet: 325.1196, gefunden: 325.1191.

Rutheniumkomplex (**73**)

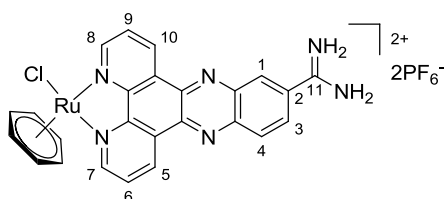


Der Ligand **72** (10.0 mg, 27.6 μmol) wurde in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol (1:1, 2.0 mL) suspendiert und mit $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6$ ^[125] (12.8 mg, 30.3 μmol) versetzt. Die Lösung wurde 16 h

bei 50 °C gerührt. Die gelb-braune Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde an Silicagel adsorbiert und säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung 50:6:2). Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand wurde in möglichst wenig Wasser aufgenommen. Der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der braune Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C) und über eine Sepak C-18 Säule (500 mg, 6 mL, 3x5 mL H₂O → 3x5 mL Acetonitril) von den Salzen abgetrennt. Die braune Lösung wurde im Vakuum getrocknet und Rutheniumkomplex **73** als gelber Feststoff erhalten (16.9 mg, 20.9 µmol, 76%).

¹H-NMR (300 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 9.74 (td, *J* = 6.9, 1.0 Hz, 2H, H-6, H-9), 9.46 (d, *J* = 5.4, 2H, H-7, H-8), 8.90 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H, H-1), 8.66 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, H-4), 8.28 (dd, *J* = 8.9, 2.0 Hz, 1H, H-3), 8.06 (dd, *J* = 7.9, 5.6 Hz, 2H, H-5, H-10), 5.40 (s, 5H, C₅H₅). **¹³C-NMR** (75 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 199.0, 178.1, 167.1, 160.9, 160.8, 145.3, 142.3, 136.4, 132.7, 132.2, 131.4, 131.2, 130.3, 127.8, 127.8, 118.3, 84.2 (C₅H₅). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3643, 3395, 1971, 1693, 1414, 1357, 840, 734, 557, 418. **HRMS** (ESI): C₂₅H₁₇N₆RuO [M – H – 2PF₆]⁺ berechnet: 519.0508, gefunden: 519.0500.

Rutheniumkomplex **74**



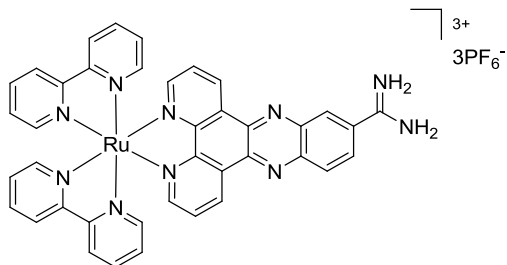
Der Ligand **72** (10.0 mg, 27.6 µmol) wurde in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol (1:1, 2.0 mL) suspendiert und mit [Ru(η⁶-C₆H₆)Cl₂]₂^[101] (10.3 mg, 20.7 µmol) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 16 h bei 50 °C gerührt. Die gelb-braune Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und

das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde an Silicagel adsorbiert und säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung 50:3:1). Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand wurde in möglichst wenig Wasser aufgenommen. Der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der braune Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C) und über eine Sepak C-18 Säule (500 mg, 6 mL, 3x5 mL H₂O → 3x5 mL Acetonitril) von den Salzen abgetrennt. Die braune Lösung wurde im Vakuum getrocknet und Rutheniumkomplex **74** als brauner Feststoff erhalten (6.4 mg, 9.34 µmol, 34%).

¹H-NMR (300 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 9.85 (dt, *J* = 6.0, 1.6 Hz, 2H, H-7, H-8), 9.77 (ddd, *J* = 8.1, 6.5, 1.1 Hz, 2H, H-6, H-9), 8.90 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-1), 8.64 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, H-4), 8.28 (dd, *J* = 8.9, 2.0 Hz, 1H, H-3), 8.21 (dd, *J* = 8.3, 5.6 Hz, 2H, H-5, H-10), 6.17 (s, 6H, C₆H₆). **¹³C-NMR** (75 MHz, MeCN-*d*₃): 165.0, 158.7, 149.1, 149.0, 143.7, 141.9, 141.2, 141.1, 136.3, 135.9, 131.8, 131.5, 130.8, 130.5, 129.8, 128.3,

128.2, 87.4 (C_6H_6). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3394, 3122, 2928, 1961, 1691, 1413, 1359, 835, 733, 655, 559, 414. **HRMS** (ESI): $C_{25}H_{19}N_6RuCl$ $[M - 2PF_6]^{2+}$ berechnet: 270.0196, gefunden: 270.0196.

Rutheniumkomplex **75**

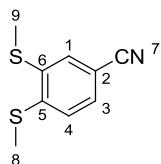


Der Ligand **72** (10.0 mg, 27.6 μ mol) wurde in Ethanol (2.0 mL) suspendiert und mit $[Ru(bpy)_2Cl_2] \cdot 2 H_2O$ ^[170] (16.0 mg, 30.3 μ mol) versetzt. Die Lösung wurde 16 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Die rote Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand

wurde an Silicagel adsorbiert und säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung 50:3:1). Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand wurde in möglichst wenig Wasser aufgenommen. Der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der rote Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C) und über eine Sepak C-18 Säule (500 mg, 6 mL, 3x5 mL $H_2O \rightarrow$ 3x5 mL Acetonitril) von den Salzen abgetrennt. Die rote Lösung wurde im Vakuum getrocknet und Rutheniumkomplex **75** als roter Feststoff erhalten (9.9 mg, 8.40 μ mol, 31%).

1H -NMR (300 MHz, $MeCN-d_3$): δ = 9.66 (dd, J = 7.1, 1.4 Hz, 2H), 8.90 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 8.67 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 8.54 (t, J = 9.0 Hz, 4H), 8.29 (dd, J = 9.0, 2.2 Hz, 1H), 8.22 (ddd, J = 5.5, 2.9, 1.4 Hz, 2H), 8.13 (td, J = 8.0, 1.4 Hz, 4H), 8.03 (td, J = 8.0, 1.4 Hz, 4H), 7.92 (dd, J = 8.2, 5.6 Hz, 2H), 7.86 (dd, J = 5.7, 0.7 Hz, 2H), 7.73 – 7.75 (m, 2H), 7.48 (ddd, J = 7.6, 5.6, 1.3 Hz, 2H), 7.27 (ddt, J = 7.5, 5.8, 1.3 Hz, 2H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $MeCN-d_3$): δ = 153.13, 153.08, 152.96, 145.2, 143.5, 142.8, 142.2, 139.1, 139.0, 134.9, 134.7, 132.7, 132.1, 131.44, 131.41, 131.35, 130.3, 128.7, 128.5, 125.4, 125.3. **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 1634, 1463, 1418, 1359, 840, 768, 732, 559. **HRMS** (ESI): $C_{39}H_{28}N_{10}Ru$ $[M - 2PF_6]^{2+}$ berechnet: 369.0765, gefunden: 369.0760.

3,4-Bis(methylthio)benzonitril (**83**)

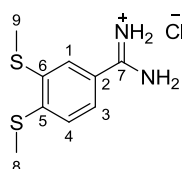


3,4-Difluorbenzonitril (**82**) (2.00 g, 14.4 mmol) wurde in DMF (30 mL) gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Die Lösung wurde portionsweise mit Natriummethylthiolat (2.22 g, 31.7 mmol) versetzt, auf Raumtemperatur erwärmt und 16 h gerührt.

Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und mit Dichlormethan (3x30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum getrocknet. 3,4-Bis(methylthio)benzonitril (**83**) wurde als weißer Feststoff erhalten (2.65 g, 13.6 mmol, 94%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.42 (dd, J = 1.5 Hz, 1H, H-2), 7.38 (d, J = 8.1, 1.5 Hz, 1H), H-3, 7.17 (d, J = 8.1 Hz, 1H, H-4), 2.53 (s, 3H, H-8), 2.51 (s, 3H, H-9). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 144.9 (C-2), 137.8 (C-1), 129.9 (C-3), 128.9 (C-6), 124.4 (C-4), 119.0 (C-5), 108.6 (C-7), 16.2 (C-8), 15.6 (C-9). **FT-IR** (Film): 2921, 2224, 1577, 1453, 1432, 1382, 1264, 1200, 1111, 1044, 956, 860, 813, 591. **HRMS** (ESI): C₉H₁₀NS₂ [M + H]⁺ berechnet: 196.0249, gefunden: 196.0249.

3,4-Bis(methylthio)benzamidin (**79**)

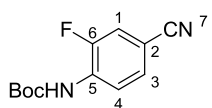


3,4-Bis(methylthio)benzonitril (**83**) (2.00 g, 14.4 mmol) wurde in Methanol (absolutiert, 170 mL) gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Die Lösung wurde 20 min mit HCl-Gas gespült, anschließend auf Raumtemperatur erwärmt und 20 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand in

Methanol (absolutiert, 100 mL) gelöst. Die Lösung wurde 20 min mit Ammoniak-Gas gespült und 20 h bei 45 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und 3,4-Bis(methylthio)benzamidin (**79**) als weißer Feststoff erhalten (3.12 g, 12.5 mmol, 98%).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9.30 (br s, 4H, 2xNH₂), 7.62 – 7.66 (m, 2H, H-1, H-3), 7.40 (d, J = 8.1 Hz, 1H, H-4), 2.61 (s, 3H, H-8), 2.58 (s, 3H, H-9). **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 164.8 (C-1), 143.8 (C-2), 136.3 (C-3), 124.7 (C-6), 124.0 (C-4), 123.9 (C-5), 14.8 (C-8), 14.6 (C-9). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3310, 3110, 1642, 1582, 1521, 1463, 1275, 1114, 1025, 996, 875, 820, 724, 557, 516, 428. **HRMS** (ESI): C₉H₁₃N₂S₂ [M + H]⁺ berechnet: 213.0512, gefunden: 213.0515.

tert-Butyl-4-cyano-2-fluorphenylcarbamat (**85**)



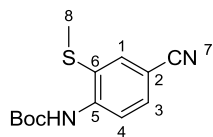
4-Amino-3-fluorbenzonitril (**84**) (2.53 g, 18.6 mmol) wurde in Tetrahydrofuran (40 mL) gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Die Lösung wurde mit 4-*N,N'*-Dimethylaminopyridin (2.27 g, 18.6 mmol) sowie Di-*tert*-butyldicarbonat (4.07 g,

18.6 mmol) versetzt, auf Raumtemperatur erwärmt und 16 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und mit Salzsäure (1 mol/L, 5.0 mL) versetzt. Die Lösung wurde mit Dichlormethan (3x50 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Hexan/Ethylacetat 10:1) und die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet. *tert*-Butyl-4-cyano-2-fluorphenylcarbamate (**85**) wurde als weißer Feststoff erhalten (3.12 g, 13.2 mmol, 71%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.31 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H-1), 7.43 (d, J = 8.7 Hz, 1H, H-3), 7.34 (dd, J = 8.7, 1.7 Hz, 1H, H-3), 6.93 (br s, 1H, NH), 1.53 (s, 9H, H_{Boc}). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 152.4 (C=O), 151.7 (C-6), 149.1 (C-5), 132.0 (C-2), 129.60 (C-3), 119.8 (C-4), 118.6 (C-1), 105.6 (C-7), 82.4 (C_{Boc}), 28.3 (C_{Boc}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3296, 2979, 2234, 1728, 1616, 1590, 1522, 1425, 1367, 1322, 1238,

1155, 1118, 1050, 887, 837, 692, 614, 536, 429. **HRMS** (ESI): $C_{12}H_{13}FN_2O_2Na$ $[M + Na]^+$ berechnet: 259.0853, gefunden: 259.0846.

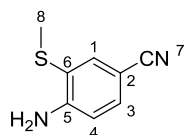
tert-Butyl-4-cyano-2-(methylthio)phenylcarbamat (**86**)



tert-Butyl-4-cyano-2-fluorophenylcarbamate (**85**) (2.60 g, 11.0 mmol) wurde in DMF (60 mL) gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Die Lösung wurde portionsweise mit Natriummethylthiolat (1.00 g, 14.3 mmol) versetzt, auf Raumtemperatur erwärmt und 16 h gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Wasser (50 mL) aufgenommen und mit Dichlormethan (3x30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. *tert*-Butyl-4-cyano-2-(methylthio)phenylcarbamate (**86**) wurde als weißer Feststoff erhalten (2.74 g, 10.3 mmol, 94%).

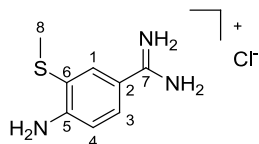
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.30 (d, J = 8.7 Hz, 1H, H-4), 7.78 (br s, 1H), 7.73 (d, J = 2.1 Hz, 1H, H-1), 7.53 (dd, J = 8.7, 2.1 Hz, 1H, H-3), 2.41 (s, 3H), 1.54 (s, 9H, H_{Boc}). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 152.1 (C=O), 143.2 (C-5), 136.7 (C-1), 132.8 (C-3), 125.1 (C-6), 118.6 (C-2), 118.4 (C-4), 106.1 (C-7), 82.0 (C_{Boc}), 28.3 (C_{Boc}), 19.0 (C-8). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3353, 2979, 2928, 2226, 1730, 1593, 1566, 1508, 1448, 1392, 1368, 1307, 1276, 1250, 1218, 1144, 1072, 1045, 1023, 898, 867, 834, 767, 727, 593. **HRMS** (ESI): $C_{13}H_{17}N_2O_2S$ $[M + H]^+$ berechnet: 265.1005, gefunden: 265.1004.

4-Amino-3-(methylthio)benzonitril (**95**)



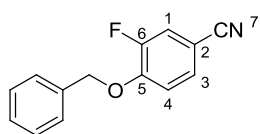
tert-Butyl-4-cyano-2-(methylthio)phenylcarbamate (**186**) (200 mg, 769 μ mol) wurde in Dichlormethan (10 mL) gelöst und mit Silicagel (3.00 g) versetzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand 16 h im Vakuum auf 80 °C erwärmt. Das an Silicagel adsorbierte Produkt wurde säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 15:1) und die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. 4-Amino-3-(methylthio)benzonitril (**95**) wurde als weißer Feststoff erhalten (126 mg, 769 μ mol, 99%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.58 (d, J = 1.8 Hz, 1H, H-1), 7.30 (dd, J = 8.3, 1.8 Hz, 1H, H-3), 6.68 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H-4), 4.83 (br s, 2H, NH₂), 2.34 (s, 3H, H-8). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 150.1 (C-5), 137.3 (C-3), 132.8 (C-1), 120.6 (C-6), 119.7 (C-2), 114.4 (C-4), 100.6 (C-7), 17.6 (C-8). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3457, 3347, 2921, 2214, 1607, 1393, 1404, 1312, 1200, 1158, 972, 821, 589, 456. **HRMS** (ESI): $C_8H_9N_2S$ $[M + H]^+$ berechnet: 165.0481, gefunden: 165.0479.

4-Amino-3-(methylthio)benzimidin-Hydrochlorid (**80**)

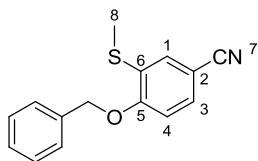
4-Amino-3-(methylthio)benzonitril (**86**) (500 mg, 1.89 mmol) wurde in wasserfreiem Methanol (30 mL) gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Es wurde 20 min HCl-Gas eingeleitet. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 16 h gerührt. Der Niederschlag wurde filtriert und mit kaltem Methanol gewaschen. Der Rückstand wurde in wasserfreiem Methanol (30 mL) suspendiert und 20 min mit Ammoniak-Gas gespült. Die Suspension wurde 16 h bei 45 °C gerührt. Es wurde Diethylether hinzugegeben, der Niederschlag wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Diethylether gewaschen und der Rückstand im Vakuum getrocknet. 4-Amino-3-(methylthio)benzimidin-Hydrochlorid (**80**) wurde als weißer Feststoff erhalten (284 mg, 1.30 mmol, 69%).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 8.98 (br s, 2H, NH₂), 8.75 (br s, 2H, NH₂), 7.76 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, H-1), 7.55 (dd, *J* = 8.6, 2.2 Hz, 1H, H-3), 6.78 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, H-4), 6.30 (br s, 2H, NH₂), 2.40 (s, 3H, H-8). **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 164.2 (C-7), 152.8 (C-5), 131.6 (C-3), 128.2 (C-1), 118.8 (C-2), 113.6 (C-6), 113.0 (C-4), 16.3 (C-8). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3301, 3127, 3049, 1662, 1613, 1472, 1406, 1179, 828, 667, 465. **HRMS** (ESI): C₈H₁₂N₃S [M + H]⁺ berechnet: 182.0746, gefunden: 182.0744.

4-(Benzyloxy)-3-fluorbenzonitril (**88**)

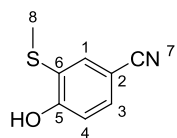
3-Fluor-4-hydroxybenzonitril (**87**) (500 mg, 3.65 mmol) wurde in einem Gemisch aus Dichlormethan und Methanol (1:1, 60 mL) gelöst und mit Benzylbromid (0.87 mL, 7.30 mmol) sowie Kaliumcarbonat (2.36 g, 16.4 mmol) versetzt. Die Lösung wurde 5 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Die Suspension wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, der Niederschlag wurde filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Salzsäure (1 mol/L, 5.0 mL) aufgenommen. Es wurde mit Dichlormethan extrahiert (3x10 mL), über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Hexan/Ethylacetat 10:1 → 6:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. 4-(Benzyloxy)-3-fluorbenzonitril (**88**) wurde als weißer Feststoff erhalten (656 mg, 2.89 mmol, 79%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.35 – 7.42 (m, 7H, H_{Bn}, H-1, H-3), 7.05 (t, *J* = 8.7 Hz, 1H, H-4), 5.20 (s, 2H, CH₂). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 153.8, 151.0, 150.9, 150.5, 135.2, 129.6, 129.6, 128.9, 128.7, 127.5, 120.0, 119.7 (C-2), 118.1, 118.0, 115.4, 115.4, 104.4 (C-7), 104.3, 71.3 (CH₂). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 2228, 1614, 1514, 1281, 1121, 994, 743. **HRMS** (APCI): C₁₄H₁₁FNO [M + H]⁺ berechnet: 228.0819, gefunden: 228.0818.

4-(Benzyloxy)-3-(methylthio)benzonitril (**89**)

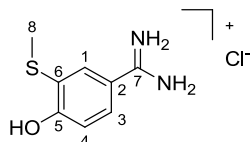
4-(Benzyloxy)-3-fluorbenzonitril (**88**) (897 mg, 3.95 mmol) wurde in DMF (2.0 mL) gelöst und mit Natriummethylthiolat (692 mg, 9.88 mmol) versetzt. Die Lösung wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Es wurde mit Dichlormethan extrahiert (3x30 mL), die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. 4-(Benzyloxy)-3-(methylthio)benzonitril (**89**) wurde als weißer Feststoff erhalten (811 mg, 3.18 mmol, 81%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.32 – 7.45 (m, 7H, H_{Bn}, H-1, H-3), 6.88 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H-4), 5.21 (s, 2H, CH₂), 2.44 (s, 3H, C-8). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 158.3, 135.7, 130.6, 130.1, 128.8 (2C), 128.4, 128.1, 127.1 (2C), 119.2, 111.4, 105.1, 70.7 (CH₂), 14.3 (C-8).

4-Hydroxy-3-(methylthio)benzonitril (**90**)

4-(Benzyloxy)-3-(methylthio)benzonitril (**89**) (40.0 mg, 157 μ mol) wurde in Acetonitril (5.0 mL) gelöst und 15 min mit Stickstoff gespült. Die Lösung wurde mit Trifluorboran-Etherat (0.30 mL, 2.35 mmol) versetzt und 24 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, mit Wasser (5.0 mL) versetzt und mit Dichlormethan extrahiert (3x15 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Hexan/Ethylacetat 15:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. 4-Hydroxy-3-(methylthio)benzonitril (**90**) wurde als weißer Feststoff erhalten (6.3 mg, 38.1 μ mol, 25%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.78 (d, J = 2.1 Hz, 1H, H-1), 7.53 (dd, J = 8.6, 2.1 Hz, 1H, H-3), 7.10 (s, 1H, OH), (d, J = 8.6 Hz, 1H, H-4), 2.37 (s, 3H, H-8). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 160.0 (C-5), 138.9 (C-3), 134.7 (C-1), 123.5 (C-6), 118.7 (C-2), 116.2 (C-4), 104.8 (C-7), 20.0 (C-8). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3282, 2225, 1579, 1500, 1479, 1401, 1284, 1246, 1211, 1176, 1071, 1033, 819, 755, 595. **HRMS** (ESI): C₈H₆NOS [M - H]⁻ berechnet: 164.0176, gefunden: 164.0174.

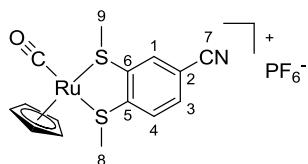
4-Hydroxy-3-(methylthio)benzamidin-Hydrochlorid (**81**)

4-Hydroxy-3-(methylthio)benzonitril (**90**) (50.0 mg, 302 μ mol) wurde in wasserfreiem Methanol (5.0 mL) gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Die Lösung wurde 20 min mit HCl-Gas gespült und 16 h bei 0 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand in wasserfreiem

Methanol (30 mL) suspendiert. Die Suspension wurde 20 min mit Ammoniak-Gas gespült und 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und 4-Hydroxy-3-(methylthio)benzamidin-Hydrochlorid (**81**) als weißer Feststoff erhalten (65.4 mg, 299 μ mol, 99%).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9.12 (br s, 2H, NH₂), 9.02 (br s, 2H, NH₂), 7.52 – 7.56 (m, 2H, H-1, H-3), 7.03 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, H-4), 3.16 (s, 3H, H-8). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3348, 3013, 2956, 2926, 1671, 1586, 1507, 1460, 1373, 1295, 1168, 1066, 932, 874, 826, 745, 612.

Rutheniumkomplex **91**

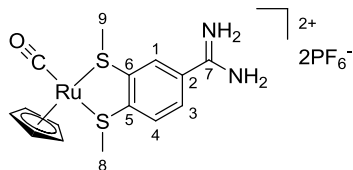


Der Ligand **83** (20.0 mg, 102 μ mol) wurde in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol (1:1, 4.0 mL) gelöst und mit [Ru(η^5 -C₅H₅)(CO)(MeCN)₂]^[125]PF₆⁻ (42.1 mg, 100 μ mol) versetzt. Die Lösung wurde 20 h bei 50 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde im

Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 100:1 → 75:1). Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet und Rutheniumkomplex **91** wurde als gelb-brauner Feststoff erhalten (26.0 mg, 67.0 μ mol, 66%).

¹H-NMR (500 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 8.34 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H, H-1), 8.09 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-4), 7.91 (dd, *J* = 8.3, 1.7 Hz, 1H, H-3), 5.49 (s, 5H, C₅H₅), 2.99 (s, 6H, H-8, H-9). **¹³C-NMR** (125 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 198.7 (C=O), 142.6 (C-5), 138.4 (C-1), 135.1 (C-6), 134.1 (C-3), 132.0 (C-4), 116.7 (C-2), 114.5 (C-7), 86.1 (C₅H₅), 33.5 (C-8), 33.2 (C-9). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3123, 2930, 2234, 1967, 1465, 1423, 1380, 982, 833, 557, 517, 473. **HRMS** (ESI): C₁₅H₁₇NORuS₂ [M - PF₆]⁺ berechnet: 389.9555, gefunden: 389.9554.

Rutheniumkomplex **92**



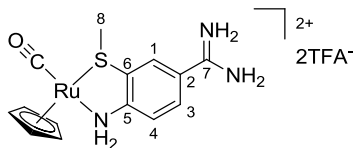
Der Ligand **79** (10.0 mg, 40.2 μ mol) wurde in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol (1:1, 1.6 mL) gelöst und mit [Ru(η^5 -C₅H₅)(CO)(MeCN)₂]^[125]PF₆⁻ (17.0 mg, 45.9 μ mol) versetzt.

Die Lösung wurde 20 h bei 50 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand mittels Umkehrphasen-HPLC gereinigt. Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand in möglichst wenig Wasser aufgenommen. Der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der gelb-braune Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), der Rückstand mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **92** wurde als gelb-brauner Feststoff erhalten (6.3 mg, 9.03 μ mol, 22%).

¹H-NMR (300 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 10.71 (br s, 2H, NH₂), 8.28 (s, 1H, H-1), 8.11 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-4), 7.86 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-3), 7.82 (br s, 2H, NH₂), 5.47 (s, 5H, C₅H₅), 2.99 (s, 6H, H-8, H-9). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3095, 1994, 1673, 1427, 1198, 1136, 842, 723. **HRMS** (ESI): C₁₅H₁₇N₂ORuS₂ [M - 2PF₆ - H]⁺

berechnet: 406.9822, gefunden: 406.9821. **HPLC:** LiChroCart® Purospher® Star RP-18e (5 μm) 150 mm x 4.6 mm, 0.5 mL min^{-1} , 10% Acetonitril in H_2O mit 0.1% Trifluoressigsäure \rightarrow 90% Acetonitril in H_2O mit 0.1% Trifluoressigsäure (über 25 min), 40 $^{\circ}\text{C}$, t_{R} (**92**) = 4.4 min.

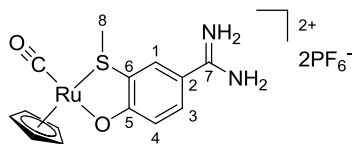
Rutheniumkomplex **93**



Der Ligand **80** (10.0 mg, 45.9 μmol) wurde in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol (3:1, 2.0 mL) gelöst. Die Lösung wurde mit $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6^{[125]}$ (19.3 mg, 45.9 μmol) und Kaliumcarbonat (6.3 mg, 45.9 μmol) versetzt. Anschließend wurde 16 h bei 40 $^{\circ}\text{C}$ gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand wurde in einem Gemisch aus Wasser und Acetonitril (9:1) aufgenommen und per Umkehrphasen-HPLC gereinigt. Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Rutheniumkomplex **93** wurde als gelber Feststoff erhalten (1.4 mg, 31.3 μmol , 7%).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 10.01 (br s, 2H, NH_2), 8.17 (s, 1H, H-1), 7.67 – 7.76 (m, 4H, H-3, H-4, NH_2), 6.46 (s, 1H, NH_2), 6.37 (s, 1H, NH_2), 5.33 (s, 5H, C_5H_5), 2.93 (s, 3H, H-8). **HRMS** (ESI): $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{ORuS}$ $[\text{M} - 2\text{TFA} - \text{H}]^+$ berechnet: 376.0052, gefunden: 376.0071. **HPLC:** LiChroCart® Purospher® Star RP-18e (5 μm) 150 mm x 4.6 mm, 0.75 mL min^{-1} , 10% Acetonitril in H_2O mit 0.1% Trifluoressigsäure \rightarrow 55% Acetonitril in H_2O mit 0.1% Trifluoressigsäure (über 22 min), 40 $^{\circ}\text{C}$, t_{R} (**93**) = 8.0 min.

Rutheniumkomplex **94**

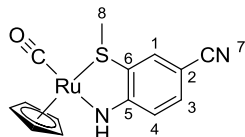


Der Ligand **81** (10.0 mg, 45.7 μmol) wurde in Methanol (2.0 mL) gelöst. Die Lösung wurde mit $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6^{[125]}$ (19.2 mg, 45.7 μmol) sowie Triethylamin (7.6 μL , 54.9 μmol) versetzt und 4 h bei 45 $^{\circ}\text{C}$ gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung 50:6:2) und die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde in möglichst wenig Wasser aufgenommen und der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der braune Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 $^{\circ}\text{C}$) und über eine Sepak C-18 Säule (500 mg, 6 mL, 3x5 mL H_2O \rightarrow 3x5 mL Acetonitril) von den Salzen abgetrennt. Die braune Lösung wurde im Vakuum getrocknet und Rutheniumkomplex **94** wurde als Gemisch zweier Diastereomere (1:1) erhalten, die Salze konnten allerdings nicht vollständig entfernt werden.

Diastereomer 1 **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 7.92 (d, J = 2.6 Hz, 1H, H-1), 7.40 (dd, J = 9.0, 2.4 Hz, 1H,), 6.76 (d, J = 9.0 Hz, 1H, H-4), 5.17 (s, 5H, C_5H_5), 2.76 (s, 3H, H-8). Diastereomer 2 **$^1\text{H-NMR}$**

(300 MHz, MeCN- d_3): δ = 7.89 (d, J = 2.6 Hz, 1H, H-1), 7.37 (dd, J = 9.0, 2.4 Hz, 1H, H-3), 6.75 (d, J = 9.0 Hz, 1H, H-4), 5.15 (s, 5H, C₅H₅), 2.76 (s, 3H, H-8).

Rutheniumkomplex **96**

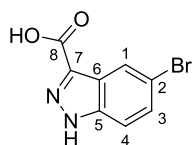


Der Ligand **95** (10.6 mg, 70.6 μ mol) wurde in einem Gemisch aus Methanol und Acetonitril (3:1, 2.0 mL) gelöst. Die Lösung wurde mit [Ru(η^5 -C₅H₅)(CO)(MeCN)₂](PF₆)^[125] (44.6 mg, 106 μ mol) sowie Kaliumcarbonat (23.7 mg, 70.6 μ mol) versetzt und 16 h bei Raumtemperatur gerührt.

Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 20:1) und die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Rutheniumkomplex **96** wurde als Gemisch zweier Diastereomere (2:1) erhalten, die nicht getrennt werden konnten (11.2 mg, 31.3 μ mol, 44%).

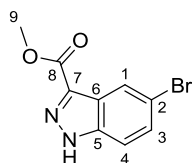
Diastereomer 1: **¹H-NMR** (300 MHz, MeCN- d_3): δ = 7.48 (d, J = 1.8 Hz, 1H, H-1), 6.83 (dd, J = 8.8, 1.8 Hz, 1H, H-3), 6.40 (d, J = 8.8 Hz, 1H, H-4), 5.10 (s, 5H, C₅H₅), 2.54 (s, 3H, H-8). Diastereomer 2: **¹H-NMR** (300 MHz, MeCN- d_3): δ = 7.44 (d, J = 1.8 Hz, 1H, H-1), 6.86 (dd, J = 8.8, 1.8 Hz, 1H, H-3), 6.38 (d, J = 8.8 Hz, 1H, H-4), 5.07 (s, 5H, C₅H₅), 2.60 (s, 3H, H-8). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3372, 2922, 2196, 1941, 1587, 1496, 1433, 1212, 843, 809. **HRMS** (ESI): C₁₄H₁₃N₂ORuS [M + H]⁺ berechnet: 358.9790, gefunden: 358.9787.

5-Brom-1H-indazol-3-carbonsäure (**105**)



1H-indazol-3-carbonsäure (**104**) (3.00 g, 18.5 mmol) wurde in Essigsäure (150 mL) suspendiert und auf 90 °C erwärmt. Darauf wurde Brom (1.5 mL, 28.5 mmol) zugetropft und die Suspension 16 h bei 90 °C gerührt. Anschließend wurde auf 0 °C abgekühlt und filtriert. Der Rückstand wurde mit Wasser und Ethylacetat gewaschen und im Vakuum getrocknet. 5-Brom-1H-indazol-3-carbonsäure (**105**) wurde als weißer Feststoff erhalten (2.03 g, 8.40 mmol, 46%).

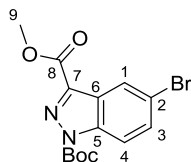
¹H-NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 14.01 (s, 2H, NH, COOH), 8.20 (dd, J = 1.8, 0.6 Hz, 1H, H-1), 7.64 (dd, J = 8.9, 0.6 Hz, 1H, H-3), 6.80 (dd, J = 8.9, 1.8 Hz, 1H, H-4). **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 163.3 (C-8), 139.8, 129.3 (2C), 123.8, 123.3, 115.3, 113.3. **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3139, 3041, 1675, 1470, 1419, 1375, 1270, 1238, 1170, 1074, 1033, 918, 780, 687, 614, 559, 427, 397. **HRMS** (ESI): C₈H₄BrN₂O₂ [M – H][–] berechnet: 238.9462, gefunden: 238.9463.

5-Brom-1*H*-indazol-3-carbonsäuremethylester (**106**)

5-Brom-1*H*-indazol-3-carbonsäure (**105**) (1.30 g, 5.04 mmol) wurde in Methanol (60 mL) suspendiert und 6 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

5-Brom-1*H*-indazol-3-carbonsäuremethylester (**106**) wurde als weißer Feststoff erhalten (1.27 g, 4.99 mmol, 99%).

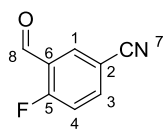
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 14.02 (s, 1H), 8.20 (dd, *J* = 1.8, 0.6 Hz, 1H, H-1), 7.76 (dd, *J* = 8.9, 0.6 Hz, 1H, H-3), 7.58 (dd, *J* = 8.9, 1.8 Hz, 1H, H-4), 3.93 (s, 3H, H-9). **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 162.3 (C-8), 139.8, 134.5, 129.7, 123.6, 123.3, 115.7, 113.5, 51.8 (C-9). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 2981, 1774, 1496, 1375, 1338, 1281, 1234, 1149, 1084, 1050, 856, 811, 789, 762. **HRMS** (ESI): C₉H₈BrN₂O₂ [M + H]⁺ berechnet: 254.9764, gefunden: 254.9761.

1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-5-brom-3-1*H*-indazol-3-carbonsäure (**108**)

5-Brom-1*H*-indazol-3-carbonsäuremethylester (**106**) (320 mg, 1.25 mmol) wurde in Tetrahydrofuran (10 mL) gelöst und bei 0 °C mit 4-*N,N'*-Dimethylaminopyridin (153 mg, 1.25 mmol) und Di-*tert*-butyldicarbonat (273 mg, 1.25 mmol) versetzt.

Die Lösung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 16 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und es wurde Salzsäure (1 mol/L, 8.0 mL) zugegeben. Die Lösung wurde mit Dichlormethan (3x15 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Hexan/Ethylacetat 6:1 → 1:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. 1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-5-brom-3-1*H*-indazol-3-carbonsäure (**108**) wurde als weißer Feststoff erhalten (222 mg, 625 μ mol, 50%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.41 (dd, *J* = 1.9, 0.6 Hz, 1H, H-1), 8.10 (dd, *J* = 9.0, 0.6 Hz, 1H, H-4), 7.66 (dd, *J* = 9.0, 1.9 Hz, 1H, H-3), 4.04 (s, 3H, H-9), 1.72 (s, 9H, H_{Boc}). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 162.0 (C-8), 148.4, 139.9, 139.4, 132.7, 126.1, 125.0, 119.1, 116.5, 87.1 (C_{Boc}), 52.9 (C-9), 28.4 (C_{Boc}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3385, 2955, 1747, 1621, 1462, 1397, 1222, 1070, 914, 826, 755, 589. **HRMS** (ESI): C₁₄H₁₅BrN₂O₄Na [M + Na]⁺ berechnet: 377.0107, gefunden: 377.0102.

5-Cyano-2-fluorbenzaldehyd (**111**)

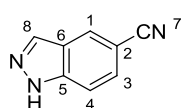
2-Brom-5-fluorbenzaldehyd (**110**) (5.00 g, 24.6 mmol) wurde in DMF (50 mL) gelöst und mit Kupfer(I)cyanid (2.50 g, 28.1 mmol) versetzt. Die Lösung wurde 15 min mit Stickstoff gespült und anschließend 6 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Die gelb-

braune Lösung wurde abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan) und die vereinigten Produktfraktionen im

Vakuum getrocknet. 5-Cyano-2-fluorbenzaldehyd (**111**) wurde als weißer Feststoff erhalten (1.83 g, 12.3 mmol, 50%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 10.35 (s, 1H, H-8), 8.22 (dd, J = 6.4, 2.3 Hz, 1H, H-1), 7.90 (ddd, J = 8.6, 6.4, 2.3 Hz, 1H, H-3), 7.35 (t, J = 8.6 Hz, 1H, H-4). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 184.9 (C-8), 168.5 (C-5), 164.6 (C-5), 139.5 (C-1), 139.4 (C-1), 133.5 (C-3), 125.0 (C-6), 118.8 (C-4), 118.4 (C-4), 116.9 (C-2), 109.9 (C-7). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3096, 2919, 2237, 1704, 1692, 1619, 1568, 1410, 1303, 1268, 1248, 1193, 1103, 950, 881, 830, 807, 663, 541, 528. **HRMS** (ESI): C₈H₄FNO [M]⁺ berechnet: 149.0277, gefunden: 149.0274.

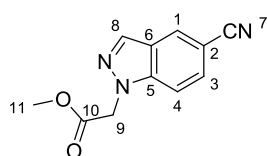
5-Cyano-1*H*-indazol (**112**)



5-Cyano-2-fluorbenzaldehyd (**111**) (1.48 g, 9.93 mmol) wurde in Hydrazin-Hydrat (50 mL) suspendiert und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die gelbe Suspension wurde mit Dichlormethan (40 mL) versetzt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan (2x40 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 35:1) und die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet. 5-Cyano-1*H*-indazol (**112**) wurde als gelber Feststoff erhalten (940 mg, 6.57 mmol, 66%).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 13.60 (s, 1H), 8.41 (dd, J = 1.4, 0.9 Hz, 1H, H-1), 8.27 (d, J = 0.9 Hz, 1H, H-8), 7.74 (dt, J = 8.7, 0.9 Hz, 1H, H-4), 7.68 (dd, J = 8.7, 1.4 Hz, 1H, H-3). **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 140.7 (C-8), 134.7 (C-5), 128.0 (C-4/C-1), 127.6 (C-1/C-4), 122.4 (C-6), 119.8 (C-2), 111.7 (C-3), 102.7 (C-7). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3182, 3123, 3042, 2946, 2914, 2867, 2779, 2218, 1621, 1585, 1497, 1394, 1344, 1295, 1243, 1123, 1074, 946, 885, 817, 741, 485, 442. **HRMS** (ESI): C₈H₄N₃ [M – H][–] berechnet: 142.0411, gefunden: 142.0412.

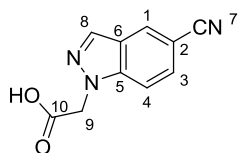
Methyl-2-(5-cyano-1*H*-indazol-1-yl)acetat (**113**)



5-Cyano-1*H*-indazol (**112**) (300 mg, 2.10 mmol) wurde in DMF gelöst und mit Kaliumcarbonat (432 mg, 3.13 mmol) versetzt. Die Suspension wurde 15 min gerührt und Bromessigsäuremethylester (240 μ L, 1.48 mmol) wurde hinzugegeben. Die Lösung wurde 4 h auf 85 °C erhitzt. Anschließend wurde abgekühlt, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 35:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. Methyl-2-(5-cyano-1*H*-indazol-1-yl)acetat (**113**) wurde als weißer Feststoff erhalten (212 mg, 986 μ mol, 47%).

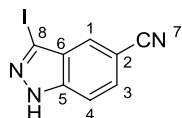
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.13 (m, 2H, H-1, H-8), 7.59 (dd, J = 8.6, 1.1 Hz, 1H, H-3), 7.4 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H-4), 5.2 (s, 2H, H-9), 3.76 (s, 3H, H-11). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 167.8, 141.1, 135.3, 129.1, 127.8, 124.0, 119.5 (C-2), 110.2, 104.9 (C-7), 52.9 (C-9), 50.4 (C-11). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 2955, 2223, 1752, 1623, 1506, 1439, 1359, 1283, 1221, 1179, 1128, 993, 898, 854, 602. **HRMS** (ESI): C₁₁H₁₀N₃O₂ [M + H]⁺ berechnet: 216.0768, gefunden: 216.0769.

2-(5-Cyano-1*H*-indazol-1-yl)essigsäure (**114**)



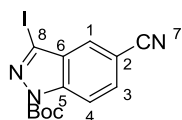
5-Cyano-1-(2-(methylthio)ethyl)-1*H*-indazol (**113**) (212 mg, 986 μ mol) wurde in Natronlauge (1 mol/L, 3.0 mL) suspendiert und 5 h gerührt bis eine homogene Lösung entstand. Die Lösung wurde mit Salzsäure (1 mol/L) bis zur sauren Reaktion versetzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in Ethanol aufgenommen und filtriert. Das Filtrat wurde im Vakuum getrocknet und 2-(5-cyano-1*H*-indazol-1-yl)essigsäure (**114**) wurde als weißer Feststoff erhalten (141 mg, 730 μ mol, 74%). **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 8.34 (s, 1H, H-8), 8.14 (s, 1H, H-1), 7.59 – 7.61 (m, 2H, H-3, H-4), 4.79 (s, 2H, H-9). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3358, 2999, 2223, 1570, 1392, 1254, 1127, 1045, 1012, 921, 809, 646, 617. **HRMS** (ESI): C₁₀H₆N₃O₂ [M – H][–] berechnet: 200.0465, gefunden: 200.4070.

5-Cyano-3-iod-1*H*-indazol (**115**)



5-Cyano-1*H*-indazol (**112**) (1.05 g, 7.34 mmol) wurde in DMF (100 mL) gelöst und mit Kaliumhydroxid (1.54 g, 27.5 mmol) versetzt. Unter starkem Rühren wurde Iod (3.79 g, 14.7 mmol) portionsweise hinzugegeben. Die rote Lösung wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde in Natriumhydrogensulfit-Lösung (10%ig, 100 mL) gegossen und mit Ethylacetat (3x30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum getrocknet. 3-Iod-5-cyano-1*H*-indazol (**115**) wurde als weißer Feststoff erhalten (1.45 g, 5.39 mmol, 82%).

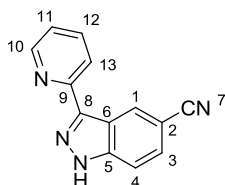
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 13.99 (s, 1H, NH), 8.03 (s, 1H, H-1), 7.72 (s, 2H, H-3, H-4). **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 141.5 (C-5), 129.2 (C-3), 127.3 (C-1), 126.7 (C-6), 119.2 (C-2), 112.2 (C-4), 103.7 (C-7), 95.2 (C-8). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 2984, 2926, 2226, 1742, 1611, 1480, 1368, 1282, 1239, 1149, 1040, 910, 862, 844, 824, 801, 756, 641, 587, 490, 417. **HRMS** (ESI): C₈H₄IN₃ [M – H][–] berechnet: 267.9377, gefunden: 267.9377.

1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-5-cyano-3-iod-5-1*H*-indazol (**116**)

3-Iod-5-cyano-1*H*-indazol (**115**) (1.45 g, 5.39 mmol) wurde in Tetrahydrofuran (10.0 mL) gelöst und auf 0 °C im Eisbad abgekühlt. Die Lösung wurde unter Rühren mit Di-*tert*-butoxycarbonat (1.18 g, 5.39 mmol)

versetzt und mit 4-*N,N'*-Dimethylaminopyridin (658 mg, 5.39 mmol) versetzt. Die Lösung wurde langsam auf Raumtemperatur erwärmt und 16 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und mit Salzsäure (1 mol/L, 8.0 mL) versetzt. Anschließend wurde mit Dichlormethan (3x30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum getrocknet. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Hexan/Ethylacetat 6:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. 1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-5-cyano-3-iod-1*H*-indazol (**116**) wurde als weißer kristalliner Feststoff erhalten (1.51 g, 4.08 mmol, 76%).

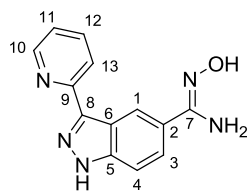
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.26 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.70 (dd, *J* = 8.5, 1.5 Hz, 1H), 1.72 (s, 9H, H_{Boc}). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 147.8 (C=O), 141.2 (C-5), 132.3 (C-3), 130.4 (C-6), 126.7 (C-1), 118.4 (C-7), 116.0 (C-4), 108.2 (C-2), 102.0 (C-8), 86.9 (C_{Boc}), 28.2 (C_{Boc}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 2982, 2943, 2230, 1770, 1746, 1614, 1483, 1373, 1295, 1243, 1152, 1050, 842, 760, 644, 591. **HRMS** (ESI): C₁₃H₁₂IN₃O₂Na [M + Na]⁺ berechnet: 391.9866, gefunden: 391.9869.

5-Cyano-3-(pyridin-2-yl)-1*H*-indazol (**117**)

1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-5-cyano-3-iod-5-1*H*-indazol (**116**) (1.51 g, 4.08 mmol) wurde in *o*-Xylol (15.0 mL) gelöst und mit 2-Pyridyltrimethylstannan (702 µL, 4.08 mmol) versetzt. Die Lösung wurde 20 min mit Stickstoff gespült und Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) (141 mg, 122 µmol) wurde

hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 24 h bei 145 °C gerührt. Anschließend wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Hexan/Ethylacetat 1:1) und die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet. 5-Cyano-3-(pyridin-2-yl)-1*H*-indazol (**117**) wurde als weißer Feststoff erhalten (328 mg, 1.49 mmol, 37%).

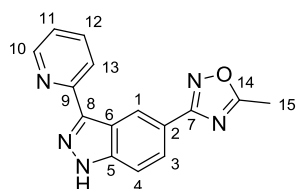
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 13.89 (s, 1H, NH), 9.02 (s, 1H, H-1), 8.76 (ddd, *J* = 4.9, 1.5, 0.9 Hz, 1H, H-10), 8.19 (dt, *J* = 7.9, 0.9 Hz, 1H, H-13), 7.93 (dt, *J* = 7.9, 1.7 Hz, 1H, H-12), 7.78 (dd, *J* = 8.7, 0.6 Hz, 1H, H-4), 7.73 (dd, *J* = 8.7, 1.3 Hz, 1H, H-3), 7.42 (ddd, *J* = 7.4, 4.9, 0.9 Hz, 1H, H-11). **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 152.3, 149.5, 142.4, 142.2, 137.1, 129.6, 128.3, 123.2, 120.4, 120.2, 119.7 (C-2), 112.2, 103.8 (C-7). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3185, 3146, 3047, 2948, 2221, 1591, 1563, 1506, 1480, 1354, 1316, 1270, 1248, 1207, 1105, 999, 939, 905, 795, 723, 695, 520, 422, 399. **HRMS** (ESI): C₁₃H₈N₄Na [M + Na]⁺ berechnet: 243.0641, gefunden: 243.0642.

(Z)-N'-Hydroxy-3-(pyridin-2-yl)-1H-indazol-5-carboximidamid (118)

5-Cyano-3-(pyridin-2-yl)-1H-indazol (**117**) (119 mg, 541 μ mol) wurde in Methanol (absolutiert, 10.0 mL) gelöst und mit Hydroxylamin-Hydrochlorid (187 mg, 7.70 mmol) versetzt. Die Lösung wurde 15 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit *N,N*-Diisopropylethylamin (446 μ L, 7.70 mmol)

versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 24 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 10:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. (Z)-N'-Hydroxy-3-(pyridin-2-yl)-1H-indazol-5-carboximidamid (**118**) wurde als weißer Feststoff erhalten (111 mg, 438 μ mol, 81%).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 13.63 (s, 1H, NH), 9.72, (s, 1H), 8.88 (s, 1H, OH), 8.75 (ddd, J = 4.9, 1.5, 0.9 Hz, 1H, H-10), 8.18 (dt, J = 7.7, 0.9 Hz, 1H, H-13), 7.90 (dt, J = 7.7, 1.7 Hz, 1H, H-12), 7.73 (dd, J = 8.7, 1.7 Hz, 1H, H-4), 7.59 (d, J = 8.9 Hz, 1H, H-3), 7.37 (ddd, J = 7.4, 4.9, 0.9 Hz, 1H, H-11), 6.04 (br s, 2H, NH₂). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 170.2 (C-7), 153.2, 149.3, 143.3, 142.1, 136.8, 124.6, 124.1, 122.5, 121.2, 120.5, 118.6, 110.2. **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3361, 2984, 2687, 2516, 1633, 1465, 1435, 1393, 1321, 1263, 1180, 1133, 1099, 1070, 1027, 927, 799, 573, 537, 489, 427. **HRMS** (ESI): C₁₃H₁₁N₅ONa [M + Na]⁺ berechnet: 276.0856, gefunden: 276.0853.

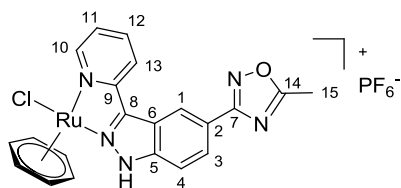
5-Methyl-3-(3-(pyridin-2-yl)-1H-indazol-5-yl)-1,2,4-oxadiazol (119)

(Z)-N'-Hydroxy-3-(pyridin-2-yl)-1H-indazol-5-carboximidamid (**118**)

(312 mg, 1.28 mmol) wurde in 1,4-Dioxan (15.0 mL) gelöst und mit Essigsäureanhydrid (600 μ L, 6.40 mmol) versetzt. Die Lösung wurde 16 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Die braune Lösung wurde auf

Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 75:1) und die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet. 5-Methyl-3-(3-(pyridin-2-yl)-1H-indazol-5-yl)-1,2,4-oxadiazol (**119**) wurde als beiger Feststoff erhalten (285 mg, 965 μ mol, 75%).

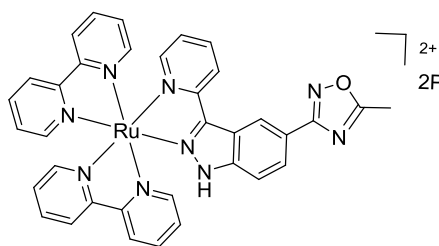
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 9.33 (dd, J = 1.6, 0.8 Hz, 1H, H-1), 8.88 (ddd, J = 4.9, 1.7, 0.9 Hz, 1H, H-10), 8.51 (dd, J = 8.8, 0.7 Hz, 1H, H-4), 8.31 (dt, J = 7.9, 1.0 Hz, 1H, H-13), 8.27 (d, J = 8.8, 1.7 Hz, 1H, H-3), 8.04 (td, J = 7.7, 1.7 Hz, 1H, H-12), 7.59 (ddd, J = 7.6, 4.9, 1.2 Hz, 1H, H-11), 2.72 (s, 3H, H-15). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 177.6 (C-14), 171.0 (C-7), 167.5, 150.7, 149.8, 141.0, 137.4, 128.1, 124.7, 124.4, 123.2, 123.1, 121.6, 115.7, 22.8 (C-15). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3048, 2928, 1714, 1592, 1573, 1474, 1377, 1343, 1219, 1188, 7093, 1041, 991, 966, 935, 904, 800, 739, 707, 678, 648, 609, 565, 517, 427, 398.

Rutheniumkomplex **121**

Der Ligand **119** (20.0 mg, 67.8 μmol) wurde in einem Gemisch aus Methanol und Acetonitril (1:1, 4.0 mL) gelöst und mit $[\text{Ru}(\eta^6\text{-C}_6\text{H}_6)\text{Cl}_2]_2$ (25.0 mg, 50.9 μmol) versetzt. Die orange-braune Lösung wurde 16 h bei 40 °C gerührt. Anschließend wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum

entfernt. Der Rückstand wurde in möglichst wenig Wasser aufgenommen und der Komplex durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der gelb-braune Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **121** wurde als gelb-brauner Feststoff erhalten (28.9 mg, 44.1 μmol , 65%).

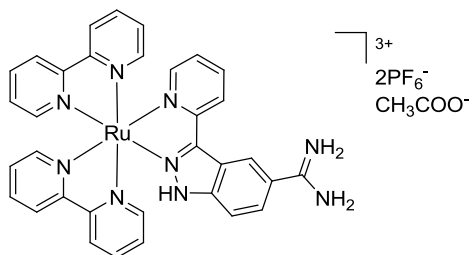
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 9.43 (d, J = 5.2 Hz, 1H, H-10), 8.70 (s, 1H, H-1), 8.33 (d, J = 7.7 Hz, 1H, H-12), 8.19 (td, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H, H-13), 8.11 (dd, J = 8.9, 1.4 Hz, 1H, H-4), 7.80 (dd, J = 8.9, 0.5 Hz, 1H, H-3), 7.55 (ddd, J = 7.3, 5.7, 1.4 Hz, 1H, H-11), 6.10 (s, 6H, C_6H_6), 2.66 (s, 3H, H-15).

Rutheniumkomplex **122**

Der Ligand **119** (20.0 mg, 67.8 μmol) wurde in Ethanol 2PF_6^- (5.0 mL) gelöst und mit $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}^{[170]}$ (42 mg, 81.4 μmol) versetzt. Die violette Suspension wurde 24 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Die rote Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde

säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung 50:6:2) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde in möglichst wenig Wasser aufgenommen und der Komplex durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der rote Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **122** wurde als roter Feststoff erhalten (27.4 mg, 27.4 μmol , 40%).

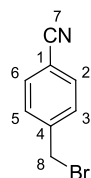
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 8.95 (dd, J = 1.1, 0.8 Hz, 1H), 8.62 (dd, J = 1.3, 0.8 Hz, 1H), 8.50 – 8.55 (m, 4H), 8.18 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.03 – 8.16 (m, 5H), 7.83 (ddd, J = 5.6, 1.3, 0.6 Hz, 1H), 7.73 – 7.92 (m, 3H), 7.64 – 7.71 (m, 2H), 7.44 – 7.47 (m, 1H), 7.39 – 7.43 (m, 2H), 7.30 – 7.37 (m, 2H), 2.69 (s, 3H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 207.5, 178.7, 169.1, 158.6, 158.3, 157.9, 154.6, 153.4, 153.3, 153.1, 152.9, 152.7, 145.9, 139.0, 138.95, 138.75, 138.71, 128.7, 128.6, 128.5, 128.2, 127.0, 126.0, 125.3, 125.2, 125.0, 124.9, 124.6, 123.5, 121.6, 119.0, 113.4, 30.9. **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3638, 3327, 2003, 1631, 1602, 1444, 1318, 1246, 1163, 836, 763, 557.

Rutheniumkomplex **125**

Rutheniumkomplex **122** (27.4 mg, 27.4 μmol) wurde in einem Gemisch aus Methanol und Essigsäure (10:1, 2.0 mL) gelöst und 15 min mit Stickstoff gespült. Zu der Lösung wurde Pd/C (10.0 mg) gegeben und ein Wasserstoff-Ballon aufgesetzt. Der Kolben wurde vakuumiert und der Druckausgleich fand über den Ballon

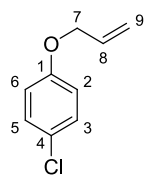
statt. Diese Prozedur wurde dreimal wiederholt und das Reaktionsgemisch wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde über einen Spritzenfilter filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Rutheniumkomplex **125** wurde als roter Feststoff erhalten (12.3 mg, 12.3 μmol , 45%).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 8.58 (s, 1H), 8.52 (t, J = 8.5 Hz, 2H), 8.43 (dd, J = 8.4, 5.0 Hz, 2H), 8.35 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.87 – 8.09 (m, 7H), 7.79 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 7.66 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.56 (t, J = 5.1 Hz, 1H), 7.41 – 7.46 (m, 2H), 7.28 – 7.36 (m, 3H), 7.09 (t, J = 7.0 Hz, 1H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 207.6, 168.4, 158.5, 158.5, 158.2, 156.7, 155.9, 125.6, 152.58, 152.51 (2C), 151.8, 143.1, 138.1, 138.0, 137.8, 137.6 (2C), 128.3, 128.2, 127.9, 127.4, 124.9, 124.8, 124.3, 124.2, 123.0, 122.2, 121.2, 120.7, 120.2, 119.5, 117.4, 30.9, 21.0. **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3382, 1683, 1453, 1270, 1206, 130, 837, 765, 559. **HRMS** (ESI): $\text{C}_{33}\text{H}_{28}\text{N}_9\text{RuP}_2\text{F}_{12}$ [$\text{M} - \text{OAc}$] $^+$ berechnet 942.0798, gefunden: 942.0791.

4-(Bromomethyl)benzonitril (**130**)

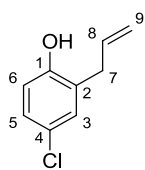
4-Tolunitril (**129**) (1.00 g, 8.55 mmol) wurde in Chloroform (30 mL) gelöst und *N*-Bromsuccinimid (1.52 g, 8.55 mmol) wurde hinzugegeben. Die Suspension wurde mit Dibenzoylperoxid (10 mg, 41.3 μmol) versetzt und 24 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Die braune Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Wasser (20 mL) aufgenommen und mit Ethylacetat (3x30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum getrocknet. 4-(Bromomethyl)benzonitril (**130**) wurde als weißer Feststoff erhalten (1.29 g, 6.58 mmol, 77%).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 7.63 – 7.65 (m, 2H, H-3), 7.48 – 7.51 (m, 2H, H-2), 4.47 (s, 2H, CH_2). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): δ = 142.9 (C-1), 132.8 (C-3), 129.9 (C-2), 118.5 (C-4), 112.4 (C-7), 31.6 (CH_2). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3156, 3077, 2361, 2225, 1775, 1692, 1505, 1413, 1370, 1293, 1192, 845, 644, 603, 547, 458, 423. **HRMS** (ESI): $\text{C}_8\text{H}_6\text{BrN}$ [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ berechnet: 217.9576, gefunden: 217.9577.

1-(Allyloxy)-4-chlorbenzol (**132**)

4-Chlorphenol (**131**) (3.8 mL, 38.9 mmol) wurde in Acetonitril (40 mL) gelöst und mit Kaliumcarbonat (8.05 g, 58.4 mmol) versetzt. Die Suspension wurde auf 90 °C erwärmt und unter Rühren mit Allylbromid (4.1 mL, 46.7 mmol) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2 h bei 90 °C gerührt, auf Raumtemperatur abgekühlt und die weiße Suspension wurde filtriert. Das Filtrat wurde im Vakuum vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Hexan/Ethylacetat 8:1). Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet. 1-(Allyloxy)-4-chlorbenzol (**132**) wurde als farbloses Öl erhalten (6.32 g, 37.4 mmol, 96%).

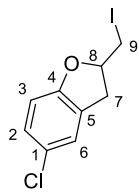
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.57 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H-2, H-6), 6.95 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H-3, H-5), 6.03 (ddd, J = 15.8, 10.5, 5.3 Hz, 1H, H-8), 5.41 (dq, J = 15.8, 1.4 Hz, 1H, H-9_{trans}), 5.33 (dq, J = 10.5, 1.4 Hz, 1H, H-9_{cis}), 4.58 (dt, J = 5.3, 1.4 Hz, 2H, H-7). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 162.0 (C-1), 134.1 (C-2, C-6), 132.2 (C-9), 119.3 (C-8), 115.6 (C-3, C-5), 104.2 (C-4), 69.1 (C-7). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3083, 2869, 2361, 1590, 1489, 1459, 1424, 1286, 1171, 1093, 1021, 998, 929, 823, 684, 638, 611, 509. **HRMS** (EI): C₉H₉ClO [M]⁺ berechnet: 168.0342, gefunden: 168.0356.

2-Allyl-4-chlorphenol (**133**)

1-(Allyloxy)-4-chlorbenzol (**132**) (6.32 g, 37.4 mmol) wurde in DMF (37.4 mL) gelöst und 18 h bei 190 °C gerührt. Die Lösung wurde mit Dichlormethan (50 mL) verdünnt, mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung (100 mL) und mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung (100 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde

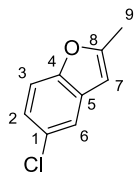
abgetrennt, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Hexan/Ethylacetat 8:1 → 3:1). Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet und 2-Allyl-4-chlorphenol (**133**) wurde als farbloses Öl erhalten (2.54 g, 15.1 mmol, 40%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.20 – 7.24 (m, 2H, H-2, H-6), 6.81 – 6.86 (m, 2H, H-3, H-5), 6.02 (ddd, J = 15.8, 10.5, 5.3 Hz, 1H, H-8), 5.41 (dq, J = 15.8, 1.4 Hz, 1H, H-9_{trans}), 5.30 (dq, J = 10.5, 1.4 Hz, 1H, H-9_{cis}), 4.49 – 4.52 (m, H-7). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3392, 3083, 2361, 2223, 1646, 1603, 1573, 1504, 1459, 1420, 1365, 1301, 1254, 1171, 1114, 993, 930, 833, 723, 620, 547. **HRMS** (EI): C₉H₉ClO [M]⁺ berechnet: 168.0342, gefunden: 168.0346.

5-Chlor-2-(iodmethyl)-2,3-dihydrobenzofuran (**134**)

2-Allyl-4-chlorphenol (**133**) (1.50 g, 9.07 mmol) wurde in Wasser (180 mL) suspendiert und mit Iod (2.57 g, 10.1 mmol) versetzt. Die Suspension wurde 40 h bei 50 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, mit gesättigter Natriumthiosulfat-Lösung (10.0 mL) sowie Ethylacetat (100 mL) versetzt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3x30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung (50 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. 5-Chlor-2-(iodmethyl)-2,3-dihydrobenzofuran (**134**) wurde als farbloses Öl erhalten (2.65 g, 9.07 mmol, 99%).

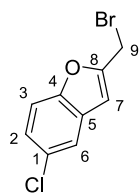
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.06 – 7.11 (m, 2H, H-2, H-6), 6.69 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H-3), 4.84 – 4.93 (m, 2H, H-7), 3.30 – 3.48 (m, 2H, H-9), 3.03 (dd, J = 16.3, 6.6 Hz, 1H, H-2). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 158.1 (C-4), 128.4 (C-6), 127.8 (C-1), 125.3 (C-2), 116.8 (C-5), 110.7 (C-3), 82.4 (C-8), 36.3 (C-7), 8.6 (C-9). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3369, 3067, 2954, 2848, 2361, 1710, 1660, 1592, 1471, 1423, 1269, 1232, 1165, 1109, 1066, 960, 858, 810, 676, 643, 575, 546, 507, 451, 421. **HRMS** (EI): C₉H₈OClI [M]⁺ berechnet: 293.9308, gefunden: 293.9315.

5-Chlor-2-methylbenzofuran (**135**)

5-Chlor-2-(iodmethyl)-2,3-dihydrobenzofuran (**134**) (2.80 g, 9.51 mmol) wurde in DMF (50 mL) gelöst und mit 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (1.42 mL, 9.51 mmol) versetzt. Die Lösung wurde 48 h bei 50 °C gerührt. Anschließend wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und die Lösung mit Wasser (50 mL) versetzt.

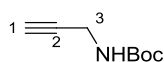
Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3x40 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung (50 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Hexan/Ethylacetat 10:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. 5-Chlor-2-methylbenzofuran (**135**) wurde als farbloses Öl erhalten (328 mg, 1.97 mmol, 21%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.79 (s, 1H, H-7), 7.47 – 7.48 (m, 2H, H-2, H-3), 6.44 (t, J = 0.9 Hz, 1H, H-6), 2.49 (s, 3H, H-9). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 157.2 (C-4), 153.2 (C-8), 130.7 (C-5), 128.1 (C-1), 123.3 (C-6), 119.8 (C-7), 111.6 (C-2), 102.5 (C-3), 14.2 (C-9). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 2921, 1602, 1442, 1380, 1323, 1291, 1254, 1178, 1138, 1061, 940, 905, 865, 794, 739, 694, 585, 553, 467, 428. **HRMS** (EI): C₉H₇OCl [M]⁺ berechnet: 166.0185, gefunden: 166.0176.

2-(Bromomethyl)-5-chlorbenzofuran (**136**)

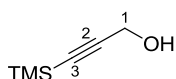
5-Chlor-2-methylbenzofuran (**135**) (280 mg, 1.91 mmol) wurde in Tetrachlormethan (10 mL) gelöst, mit *N*-Bromsuccinimid (340 mg, 1.91 mmol) und Dibenzoylperoxid (46.2 mg, 191 μ mol) versetzt. Die Lösung wurde 16 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und mit Dichlormethan (3x20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Hexan/Ethylacetat 6:1 \rightarrow 1:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. 2-(Bromomethyl)-5-chlorbenzofuran (**136**) wurde als beiger Feststoff erhalten (381 mg, 1.55 mmol, 81%).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 7.87 (q, J = 0.7 Hz, 1H, H-7), 7.56 (d, J = 1.5 Hz, 1H, H-3), 7.55 (t, J = 0.7 Hz, 1H, H-2), 6.81 (d, J = 0.4 Hz, 1H, H-6), 2.49 (s, 3H, H-9). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): δ = 156.8 (C-4), 155.4 (C-8), 134.4 (C-5), 129.8 (C-1), 128.7 (C-6), 126.4 (C-7), 112.7 (C-2), 105.8 (C-3), 22.3 (C-9). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 2923, 1740, 1588, 1483, 1443, 1254, 1210, 1183, 1149, 1100, 1059, 948, 910, 881, 802, 741, 696, 657, 591, 568, 458, 429. **HRMS** (EI): $\text{C}_9\text{H}_6\text{OClBr}$ $[\text{M}]^+$ berechnet: 243.9291, gefunden: 243.9291.

tert-Butyl-prop-1-ynylcarbamat (**138**)

1-Propargylamin (**137**) (1.16 mL, 18.2 mmol) wurde in Dichlormethan (20 mL) gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Die Lösung wurde langsam unter Rühren mit Di-*tert*-butylcarbonat (3.95 g, 18.2 mmol) in Dichlormethan (20 mL) versetzt. Die gelbe Suspension wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 1 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Hexan/Ethylacetat 8:1). Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet. *tert*-Butyl-prop-2-ynylcarbamat (**138**) wurde als weißer Feststoff erhalten (2.74 g, 17.7 mmol, 97%).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 4.74 (s, 1H, NH), 3.91 (d, J = 2.5 Hz, 2H, H-3), 2.09 (t, J = 2.5 Hz, 1H, H-1), 1.44 (s, 9H, H_{Boc}). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): δ = 155.4 (C=O), 80.2 (C-2, C-3), 71.4 (C_{Boc}), 30.5 (C-1), 28.5 (C_{Boc}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3307, 3280, 2979, 1674, 1528, 1450, 1392, 1364, 1277, 1249, 1153, 1045, 950, 917, 854, 783, 652, 482. **HRMS** (ESI): $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}_2\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$ berechnet: 178.0838, gefunden: 178.0839.

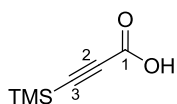
3-(Trimethylsilyl)prop-2-in-1-ol (**140**)

Prop-2-in-1-ol (**139**) (3.70 g, 66.0 mmol) wurde in Tetrahydrofuran (absolutiert, 80 mL) gelöst und auf -78 °C abgekühlt. Es wurde langsam *n*-Butyllithium

(2.5 mol/L in Hexan, 56.8 mL, 142 mmol) zugetropft und 2 h bei -78 °C gerührt. Anschließend wurde Trimethylsilylchlorid (18.0 mL, 142 mmol) zugegeben und die weiße Suspension auf Raumtemperatur erwärmt. Es wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt und mit Salzsäure (2 mol/L, 80 mL) versetzt. Die Lösung wurde mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert und anschließend mit Diethylether extrahiert (3x50 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und 3-(Trimethylsilyl)prop-2-in-1-ol (**140**) als farbloses Öl erhalten (6.77 g, 52.8 mmol, 80%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 4.05 (s, 2H, H-1), 0.00 (s, 9H, H_{TMS}).

3-(Trimethylsilyl)propionsäure (**141**)

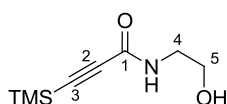


3-(Trimethylsilyl)prop-2-in-1-ol (**140**) (6.77 g, 52.8 mmol) wurde in Aceton (200 mL) gelöst und im Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Es wurde langsam eine Lösung aus Chromtrioxid (9.34 g, 93.5 mmol) in 30%iger Schwefelsäure (40 mL)

so zugetropft, dass die Temperatur nicht über 20 °C stieg. Anschließend wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Es wurde mit Diethylether extrahiert (3x30 mL) und die vereinigten organischen Phasen mit Schwefelsäure gewaschen (30 mL, 2 mol/L). Die organische Phase wurde mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert (5x30 mL), mit Schwefelsäure (2 mol/L) bis zur sauren Reaktion versetzt und mit Diethylether extrahiert (3x30 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen (50 mL), über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. 3-(Trimethylsilyl)propionsäure (**141**) wurde als farbloses Öl erhalten (5.74 g, 40.4 mmol, 76%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 11.09 (br s, 1H, COOH), 0.27 (s, 9H, H_{TMS}). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 157.6 (C-1), 97.5 (C-2), 93.9 (C-3), -0.9 (C_{TMS}). FT-IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2964, 2623, 2178, 1690, 1403, 1254, 917, 847, 762, 707, 619. HRMS (ESI): C₆H₉OSi [M – H][–] berechnet: 141.0377, gefunden: 141.0378.

N-(2-Hydroxyethyl)-3-(trimethylsilyl)propionamid (**142**)



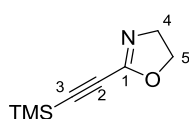
3-(Trimethylsilyl)propionsäure (**141**) (2.00 g, 14.0 mmol) wurde in Tetrahydrofuran (70 mL) gelöst, mit *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid (1.94 g, 18.6 mmol) und mit *N*-Hydroxysuccinimid (3.47 g, 18.6 mmol) versetzt. Die

gelbe Suspension wurde 4 h bei Raumtemperatur gerührt und es wurde 2-Aminoethanol (844 µL, 14.0 mmol) zugetropft. Die Suspension wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt, anschließend wurde der Niederschlag filtriert und das Filtrat im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde in Ethylacetat (30 mL) aufgenommen und mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen (50 mL). Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel

im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen, an Silicagel adsorbiert und säulenchromatographisch gereinigt (Hexan/Ethylacetat 1:1). Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet. *N*-(2-Hydroxyethyl)-3-(trimethylsilyl)propiolamid (**142**) wurde als weißer Feststoff erhalten (1.70 g, 9.17 mmol, 65%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 6.37 (br s, 1H, NH), 3.77 (t, J = 4.7 Hz, 2H, H-5), 3.46 (q, J = 4.7 Hz, 2H, H-4), 0.22 (s, 9H, H_{TMS}). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 153.7 (C-1), 97.5 (C-2), 92.2 (C-3), 61.8 (C-4), 42.5 (C-5), -0.6 (C_{TMS}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3241, 3050, 2960, 1740, 1631, 1545, 1427, 1278, 1069, 848, 762, 703, 624. **HRMS** (ESI): C₈H₁₅NO₂SiNa [M + Na]⁺ berechnet: 208.0764, gefunden: 208.0764.

2-((Trimethylsilyl)ethynyl)-4,5-dihydrooxazol (**143**)

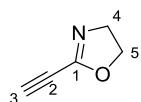


N-(2-Hydroxyethyl)-3-(trimethylsilyl)propiolamid (**142**) (648 mg, 3.50 mmol) wurde in 1,2-Dichlorethan (20 mL) gelöst. Zur Lösung wurden Triethylamin (2.4 mL, 17.3 mmol) und 4-*N,N'*-Dimethylaminopyridin (12.2 mg, 100 μ mol)

gegeben. Unter Rühren wurde langsam Methansulfonylchlorid (507 μ L, 5.20 mmol) hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde 4 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Die braune Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Aceton (20 mL) aufgenommen, an Silicagel adsorbiert und säulenchromatographisch gereinigt (Hexan/Ethylacetat 1:1). Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet und 2-((Trimethylsilyl)ethynyl)-4,5-dihydrooxazol (**143**) wurde als gelbes Öl erhalten (374 mg, 2.23 mmol, 64%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 4.32 (td, J = 9.6, 0.8 Hz, 2H, H-5), 3.95 (td, J = 9.6, 0.8 Hz, 2H, H-4), 0.23 (s, 9H, H_{TMS}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3226, 2963, 1717, 1654, 1625, 1540, 1351, 1317, 1253, 1218, 1046, 994, 914, 850, 762, 707. **HRMS** (ESI): C₈H₁₄NOSi [M + H]⁺ berechnet: 168.0839, gefunden: 168.0840.

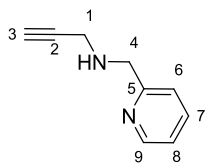
2-Ethynyl-4,5-dihydrooxazol (**144**)



2-((Trimethylsilyl)ethynyl)-4,5-dihydrooxazol (**143**) (567 mg, 3.39 mmol) wurde in Tetrahydrofuran (7.5 mL) gelöst und mit Tetrabutylammoniumfluorid (1.0 mol/L in Tetrahydrofuran, 7.5 μ L), sowie mit Wasser (7.5 μ L) versetzt. Die Lösung wurde

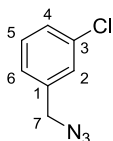
30 min bei Raumtemperatur gerührt, Dichlormethan (15 mL) wurde hinzugegeben und es wurde mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung (15 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan (2x10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand ohne weitere Reinigung für die nächste Reaktion verwendet.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 4.27 (td, J = 9.7, 0.8 Hz, 2H, H-5), 3.89 (t, J = 9.7 Hz, 2H, H-4), 3.16 (s, H-3).

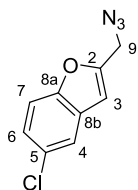
***N*-(Pyridin-2-ylmethyl)prop-2-in-1-amin (**145**)**

2-Aminomethylpyridin (**144**) (510 μ L, 4.89 mmol) wurde in Acetonitril (50 mL) gelöst und mit Triethylamin (1.02 mL, 7.43 mmol) versetzt. Bei Raumtemperatur wurde unter Rühren Propargylbromid zugetropft und anschließend 16 h bei 50 °C gerührt. Die gelbe Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 20:1) und die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet. *N*-(Pyridin-2-ylmethyl)prop-2-in-1-amin (**145**) wurde als gelbes Öl erhalten (219 mg, 1.50 mmol, 31%).

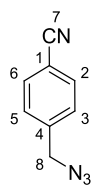
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.56 (d, J = 4.3 Hz, 1H, H-9), 7.64 (td, J = 7.6, 1.5 Hz, 1H, H-7), 7.32 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H-6), 7.17 (t, J = 5.4 Hz, 1H, H-8), 4.01 (s, 2H, H-4), 3.51 (d, J = 2.1 Hz, 2H, H-1), 2.43 (br s, 1H, NH), 2.24 (t, J = 2.1 Hz, 1H, H-3). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 159.0 (C-5), 149.5 (C-9), 136.6 (C-7), 122.6 (C-6), 122.2 (C-8), 81.8 (C-3), 71.9 (C-2), 53.7 (C-4), 37.9 (C-1). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3293, 3064, 3010, 2921, 2845, 1666, 1595, 1469, 1433, 1357, 1299, 1237, 1120, 1049, 996, 960, 906, 759, 636, 551, 503, 464, 404. **HRMS** (ESI): C₉H₁₁N₂ [M + H]⁺ berechnet: 147.0917, gefunden: 147.0916.

1-(Azidomethyl)-3-chlorbenzol (149**)**

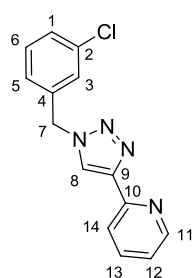
1-(Bromomethyl)-3-chlorbenzol (5.00 g, 24.3 mmol) wurde in DMF (60 mL) gelöst und mit Natriumazid (1.74 g, 26.8 mmol) versetzt. Die farblose Lösung wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt und es wurde Salzsäure (2 mol/L, 10.0 mL) hinzugegeben. Anschließend wurde mit Diethylether extrahiert (3x20 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. 1-(Azidomethyl)-3-chlorbenzol (**149**) wurde als farbloses Öl erhalten und ohne weitere Reinigung für die nächste Reaktion verwendet (3.05 g, 18.2 μ mol, 75%).

2-(Azidomethyl)-5-chlorbenzofuran (150**)**

4-(Bromomethyl)benzonitril (**136**) (380 mg, 1.55 mmol) wurde in DMF (10 mL) gelöst und mit Natriumazid (110 mg, 1.70 mmol) versetzt. Die Lösung wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden Salzsäure (6 mol/L, 1.0 mL) sowie Wasser (6.0 mL) hinzugegeben und mit Diethylether (3x10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum getrocknet. 2-(Azidomethyl)-5-chlorbenzofuran (**150**) wurde als farbloses Öl erhalten und ohne weitere Reinigung für die nächste Reaktion verwendet.

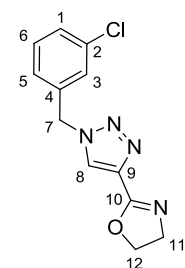
4-(Azidomethyl)benzonitril (**151**)

4-(Bromomethyl)benzonitril (**130**) (7.00 g, 35.5 mmol) wurde in DMF (70 mL) gelöst und mit Natriumazid (2.55 g, 39.1 mmol) versetzt. Die Lösung wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde Salzsäure (20 mL, 1 mol/L) hinzugegeben und mit Diethylether (3x30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum getrocknet. 4-(Azidomethyl)benzonitril (**151**) wurde als farbloses Öl erhalten (3.30 g, 20.9 mmol, 59%) und ohne weitere Reinigung für die nächste Reaktion verwendet.

2-(1-(3-Chlorbenzyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)pyridin (**153**)

1-(Azidomethyl)-3-chlorbenzol (**149**) (250 mg, 1.49 mmol) wurde in einem Gemisch aus *tert*-Butanol und Wasser (1:1, 8.0 mL) gelöst und mit 2-Ethynylpyridin (125 µL, 1.24 µmol) versetzt. Die Lösung wurde 15 min mit Stickstoff gespült und es wurden Kupfersulfat (11.8 mg, 74.5 µmol) sowie Natrium-L-(+)-ascorbat (29.5 mg, 149 µmol) zugegeben. Die gelbe Lösung wurde 40 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend wurden Wasser (10 mL) sowie wässrige Ammoniumhydroxid-Lösung (konz., 0.5 mL) zugegeben. Der entstandene Feststoff wurde filtriert und mit Wasser gewaschen. Der Rückstand wurde im Hochvakuum getrocknet und 2-(1-(3-Chlorbenzyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)pyridin (**153**) wurde als beiger Feststoff erhalten (134 mg, 496 µmol, 40%).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 8.83 (br s, 2H), 7.97 (br s, 2H), 7.42 – 7.48 (m, 4H), 7.31 – 7.34 (m, 1H), 5.72 (s, 2H, H-7). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3082, 2098, 1597, 1572, 1510, 1468, 1415, 1344, 1204, 1148, 1079, 1042, 994, 890, 846, 782, 747, 714, 681, 592, 513, 469, 437, 408. **HRMS** (ESI): C₁₄H₁₂ClN₄ [M + H]⁺ berechnet: 271.0745, gefunden: 271.0744.

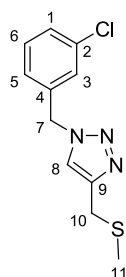
2-(1-(3-Chlorbenzyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-4,5-dihydrooxazol (**154**)

1-(Azidomethyl)-3-chlorbenzol (**149**) (551 mg, 3.39 mmol) wurde in einem Gemisch aus *tert*-Butanol und Wasser (1:1, 15.0 mL) gelöst und mit 2-Ethynyl-4,5-dihydrooxazol (**144**) (322 mL, 3.39 µmol) versetzt. Die Lösung wurde 15 min mit Stickstoff gespült und es wurden Kupfersulfat (29.0 mg, 170 µmol) sowie Natrium-L-(+)-ascorbat (67.0 mg, 339 µmol) zugegeben. Die gelb-braune Lösung wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt und zur Reaktionslösung wurden Wasser (10 mL) sowie wässrige Ammoniumhydroxid-Lösung (konz., 0.5 mL) gegeben. Es wurde mit Dichlormethan extrahiert (3x10 mL), die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde

säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 15:1). Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet und 2-(1-(3-Chlorbenzyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-4,5-dihydrooxazol (**154**) wurde als weißer Feststoff erhalten (286 mg, 1.09 mmol, 32%).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 8.70 (s, 1H, H-8), 7.41 – 7.45 (m, 3H, H-3, H-1, H-6), 7.28 – 7.31 (m, 1H, H-5), 5.67 (s, 2H, H-7), 3.71 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, H-11), 3.56 (q, *J* = 6.0 Hz, 2H, H-12). **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 159.7 (C-10), 142.7 (C-9), 138.0 (C-2), 133.3 (C-4), 130.8 (C-8), 128.3, 127.9, 126.9, 126.8, 52.3 (C-7), 42.9 (C-12), 40.4 (C-11). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3317, 3107, 3067, 2960, 1654, 1574, 1520, 1465, 1434, 1355, 1299, 1242, 1051, 984, 871, 834, 744, 695, 668, 629, 589, 431, 398. **HRMS** (ESI): C₁₂H₁₁ClN₄ONa [M + Na]⁺ berechnet: 285.0525, gefunden: 285.0522.

1-(3-Chlorbenzyl)-4-(methylthiomethyl)-1*H*-1,2,3-triazol (**156**)

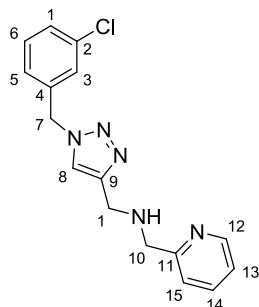


Natriummethylthiolat (295 mg, 4.20 mmol) wurde in einem Gemisch aus *tert*-Butanol und Wasser (1:1, 10.0 mL) gelöst und mit Natriumhydroxid (168 mg, 4.20 mmol) versetzt. Die Lösung wurde auf 0 °C abgekühlt und es wurde Propargylbromid (534 μ L, 4.20 mmol) tropfenweise zugegeben. Es wurde 30 min bei 0 °C gerührt, auf Raumtemperatur erwärmt und 16 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit einem Gemisch aus *tert*-Butanol

und Wasser (1:1, 15 mL) versetzt und 1-(Azidomethyl)-3-chlorbenzol (**149**) wurde zugegeben. Die Lösung wurde 15 min mit Stickstoff gespült und es wurden Kupfersulfat (33.0 mg, 210 μ mol) sowie Natrium-L-(+)-ascorbat (83.0 mg, 420 μ mol) hinzugefügt. Es wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt und mit Dichlormethan extrahiert (3x30 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. 1-(3-Chlorbenzyl)-4-(methylthiomethyl)-1*H*-1,2,3-triazol (**156**) wurde als braunes Öl erhalten (1.83 g, 12.3 mmol, 50%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.39 (s, 1H, H-8), 7.04 – 7.25 (m, 4H, H-3, H-5, H-6), 5.42 (s, 2H, H-7), 3.72 (s, 2H, H-10), 1.21 (s, 3H, H-11). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 136.7, 135.1, 130.5, 130.2, 129.1, 128.5, 128.2, 126.1, 54.2 (C-7), 53.6 (C-10), 31.3 (C-11). **HRMS** (ESI): C₁₁H₁₃ClN₃S [M + H]⁺ berechnet: 253.0440, gefunden: 253.0515.

1-(1-(3-Chlorbenzyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-*N*-(pyridin-2-ylmethyl)methanamin (**157**)

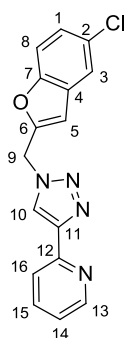


1-(Azidomethyl)-3-chlorbenzol (**149**) (360 mg, 2.15 mmol) wurde in einem Gemisch aus *tert*-Butanol und Wasser (1:1, 6.0 mL) gelöst und mit *N*-(Pyridin-2-ylmethyl)prop-2-in-1-amin (210 mg, 1.44 mmol) versetzt. Die Lösung wurde 15 min mit Stickstoff gespült und es wurden Kupfersulfat (11.5 mg, 72.0 μ mol) sowie Natrium-L-(+)-ascorbat (28.5 mg, 144 μ mol) zugegeben. Die Lösung wurde 16 h bei

Raumtemperatur gerührt und zur Reaktionslösung wurden Wasser (10 mL) sowie wässrige Ammoniumhydroxid-Lösung (konz., 0.5 mL) gegeben. Der entstandene Feststoff wurde mit Ethylacetat (3x10 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum getrocknet. 1-(1-(3-Chlorbenzyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-*N*-(pyridin-2-ylmethyl)methanamin (**157**) wurde als weißer Feststoff erhalten (374 mg, 1.17 mmol, 83%).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 8.48 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H), 8.07 (s, 2H), 7.77 (td, *J* = 7.7, 1.0 Hz, 1H), 7.40 – 7.45 (m, 4H), 7.24 – 7.27 (m, 2H), 5.60 (s, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.77 (s, 2H). **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 148.7, 138.6, 136.4, 133.2, 132.6, 130.6, 128.6, 128.0, 127.8, 126.6, 123.1, 121.9 (2C), 51.9 (C-7), 40.1 (C-1), 39.8 (C-11). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3288, 3129, 2821, 2774, 1669, 1590, 1433, 1355, 1315, 1211, 1100, 1051, 991, 944, 911, 837, 775, 733, 682, 658, 513, 435, 403. **HRMS** (ESI): C₁₆H₁₇ClN₅ [M + H]⁺ berechnet: 314.1167, gefunden: 314.1165.

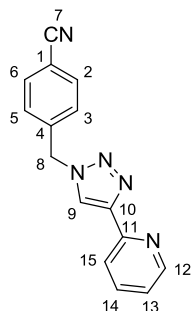
2-(1-((5-Chlorbenzofuran-2-yl)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)pyridin (**158**)



2-(Azidomethyl)-5-chlorbenzofuran (**150**) (257 mg, 1.24 mmol) wurde in einem Gemisch aus *tert*-Butanol und Wasser (1:1, 12.0 mL) gelöst und mit 2-Ethynylpyridin (101 μ L, 843 μ mol) versetzt. Die Lösung wurde 15 min mit N₂ gespült und es wurden Kupfersulfat (7.0 mg, 50.0 μ mol) sowie Natrium-L-(+)-ascorbat (19.5 mg, 10 μ mol) zugegeben. Die gelbe Lösung wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden Wasser (10 mL) sowie Ammoniumhydroxid-Lösung zugegeben (konz., 0.5 mL) und mit Dichlormethan

(3x10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 75:1 \rightarrow 20:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. 2-(1-((5-Chlorbenzofuran-2-yl)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)pyridin (**158**) wurde als weißer Feststoff erhalten (155 mg, 500 μ mol, 50%).

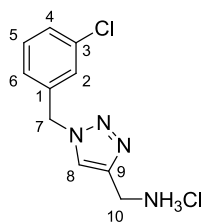
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.41 (s, 1H, H-13), 8.28 (s, 1H, H-10), 8.02 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H-16), 7.81 (s, 1H, H-5), 7.71 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H, H-15), 7.41 – 7.54 (m, 2H, H-8, H-13), 7.16 – 7.18 (m, 1H, H-14), 6.85 (s, 1H, H-3), 5.70 (s, 2H, H-9). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3097, 3059, 2930, 2361, 2227, 2167, 1601, 1466, 1442, 1422, 1359, 1334, 1230, 1199, 1152, 1115, 1077, 1041, 996, 916, 891, 819, 782, 740, 616, 452, 428, 408. **HRMS** (ESI): C₁₆H₁₁ClN₄O [M + Na]⁺ berechnet: 333.0514, gefunden: 333.0515.

4-((4-(Pyridin-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)benzonitril (**159**)

4-(Azidomethyl)benzonitril (**151**) (200 mg, 1.26 mmol) wurde in einem Gemisch aus *tert*-Butanol und Wasser (1:1, 4.0 mL) gelöst und mit 2-Ethynylpyridin (81.1 μ L, 843 μ mol) versetzt. Die Lösung wurde 15 min mit Stickstoff gespült und es wurden Kupfersulfat (10.1 mg, 53.0 μ mol) sowie Natrium-L-(+)-ascorbat (25.0 mg, 126 μ mol) zugegeben. Die gelbe Lösung wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Reaktionslösung wurden Wasser (10 mL) und wässrige Ammoniumhydroxid-Lösung (konz., 0.5 mL) gegeben. Der entstandene

Feststoff wurde mit Ethylacetat (3x10 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 75:1 \rightarrow 10:1). Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet und 4-((4-(Pyridin-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)benzonitril (**159**) wurde als weißer Feststoff erhalten (143 mg, 547 μ mol, 65%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.55 (ddd, J = 5.0, 1.7, 1.0 Hz, 1H, H-12), 8.18 (dt, J = 7.7, 1.0 Hz, 1H, H-15), 8.13 (s, 1H, H-9), 7.79 (td, J = 7.7, 1.7 Hz, 1H, H-14), 7.67 (d, J = 8.3 Hz, 2H, H-3, H-5), 7.40 (d, J = 8.3 Hz, 2H, H-2, H-6), 7.24 (ddd, J = 7.7, 5.0, 1.0 Hz, 1H, H-13), 5.85 (s, 2H, H-9). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 150.0, 149.4, 149.2, 139.7, 137.2, 133.1, 128.7, 123.3, 122.3, 120.5, 118.2, 113.0 (C-7), 53.7 (C-8). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3061, 2361, 2229, 1996, 1773, 1712, 1603, 1469, 1421, 1354, 1231, 1044, 784, 553, 516, 410. **HRMS** (ESI): C₁₅H₁₂N₅ [M + H]⁺ berechnet: 262.1087, gefunden: 262.1088.

(1-(3-Chlorbenzyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methanamin-Hydrochlorid (**160**)

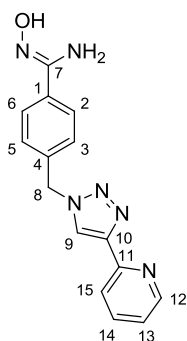
1-(Azidomethyl)-3-chlorbenzol (**150**) (240 mg, 1.43 μ mol) wurde in einem Gemisch aus *tert*-Butanol und Wasser (1:1, 8.0 mL) gelöst und mit *tert*-Butyl-prop-2-ynylcarbammat (185 mg, 1.19 mmol) versetzt. Die Lösung wurde 15 min mit Stickstoff gespült und es wurden Kupfersulfat (9.5 mg, 60.0 μ mol) sowie Natrium-L-(+)-ascorbat (23.5 mg, 119 μ mol) zugegeben.

Die Lösung wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Reaktionslösung wurden Wasser (10 mL) sowie wässrige Ammoniumhydroxid-Lösung (konz., 0.5 mL) gegeben. Der entstandene Feststoff wurde mit Ethylacetat (3x10 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum getrocknet. (1-(3-Chlorbenzyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methanamin-Hydrochlorid wurde als weißer Feststoff erhalten. Der Feststoff wurde anschließend in methanolische HCl-Lösung (2 mol/L, 5.0 mL) gegeben und bei Raumtemperatur 16 h gerührt. Das Produkt wurde durch Zugabe von Diethylether (20 mL) ausgefällt. Der Feststoff wurde filtriert und im

Vakuum getrocknet. (1-(3-Chlorbenzyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methanamin-Hydrochlorid (**160**) wurde als weißer Feststoff erhalten (106 mg, 464 μ mol, 32%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.46 (br s, 2H, NH₂), 8.29 (s, 1H, H-8), 7.42 – 7.43 (m, 3H, H-2, H-4, H-5), 7.29 – 7.33 (m, 1H, H-6), 5.69 (s, 2H, H-7), 4.10 (q, J = 5.6 Hz, 2H, H-10). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 140.5, 138.3, 133.2, 130.1, 128.2, 127.9, 126.8, 124.7, 52.0 (C-7), 33.8 (C-10). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3003, 2962, 2909, 2677, 2585, 1594, 1505, 1469, 1435, 1349, 1206, 1164, 1128, 1987, 1046, 960, 884, 826, 803, 758, 694, 661, 510, 427. **HRMS** (ESI): C₁₀H₁₂ClN₄ [M + H]⁺ berechnet: 223.0745, gefunden: 223.0748.

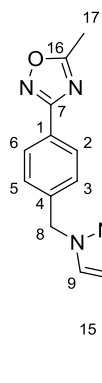
(*Z*)-*N'*-Hydroxy-4-((4-(pyridin-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)benzimidamid (**161**)



4-((4-(Pyridin-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)benzonitril (**159**) (200 mg, 786 μ mol) wurde in Methanol (absolutiert, 10.0 mL) gelöst und mit Hydroxylamin-Hydrochlorid (267 mg, 3.84 mmol) versetzt. Die Lösung wurde bei Raumtemperatur 15 min gerührt und anschließend wurde *N,N*-Diisopropylethylamin (635 μ L, 3.84 mmol) zugegeben. Die Lösung wurde 16 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Die Reaktionslösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der

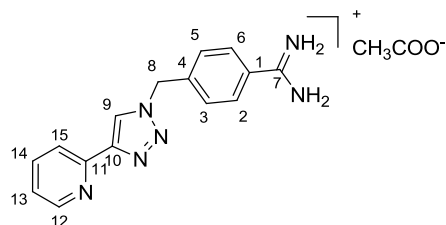
Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 15:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. (*Z*)-*N'*-Hydroxy-4-((4-(pyridin-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)benzimidamid (**161**) wurde als weißer Feststoff erhalten (210 mg, 713 μ mol, 93%).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9.76 (s, 1H, OH), 8.75 (s, 1H, H-9), 8.62 – 8.64 (m, 1H, H-12), 8.08 (dt, J = 7.9, 1.0 Hz, 1H, H-13), 7.92 (td, J = 7.7, 1.7 Hz, 1H, H-14), 7.73 (d, J = 8.3 Hz, 2H, H-6, H-2), 7.43 (d, J = 8.3 Hz, 2H, H-5, H-3), 7.38 (ddd, J = 7.7, 5.0, 1.1 Hz, 1H, H-15), 5.92 (s, 2H, H-8). **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 178.0 (C-7), 171.3, 167.5, 150.9, 150.1, 147.3, 141.0, 139.1, 137.8, 128.2, 124.8, 123.3, 121.8, 115.9, 52.9 (C-8). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3417, 3308, 3126, 2924, 1710, 1655, 1604, 1560, 1518, 1469, 1421, 1384, 1359, 1220, 1152, 1088, 1051, 1007, 921, 832, 779, 732, 624, 513, 432, 403. **HRMS** (ESI): C₁₅H₁₅N₆O [M + H]⁺ berechnet: 295.1302, gefunden: 295.1300.

(Z)-N'-Acetoxy-4-((4-(pyridin-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)benzimidamid (162)

(Z)-N'-Hydroxy-4-((4-(pyridin-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)benzimidamid (161) (206 mg, 700 μmol) wurde in 1,4-Dioxan (5.0 mL) gelöst und mit Essigsäureanhydrid (100 μL , 1.05 mmol) versetzt. Die Lösung wurde 16 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 10:1) und die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet. **(Z)-N'-Acetoxy-4-((4-(pyridin-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)benzimidamid (162)** wurde als weißer Feststoff erhalten (179 mg, 532 μmol , 76%).

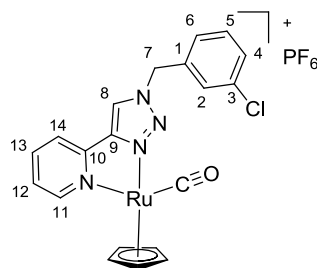
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 8.76, (s, 1H, H-9), 8.58 – 8.62 (m, 1H, H-13), 8.00 – 8.06 (m, 3H), 7.88 (td, J = 7.6, 1.7 Hz, 1H, H-14), 7.53 (d, J = 8.3 Hz, 2H, H-2, H-6), 7.43 (d, J = 8.3 Hz, 2H, H-3, H-5), 7.33 (ddd, J = 7.7, 5.0, 1.1 Hz, 1H, H-15), 5.78 (s, 2H, H-8), 2.64 (s, 3H, H-17). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 177.7 (C-16), 149.8, 149.6, 147.6, 139.4, 137.2, 128.8, 127.8, 127.4, 126.1, 123.8, 123.2, 119.5, 52.7 (C-8), 12.1 (C-17). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 2924, 2854, 1570, 1544, 1466, 1418, 1350, 1258, 1226, 1142, 1114, 1077, 1041, 900, 860, 819, 781, 734, 516, 478, 402. **HRMS** (ESI): $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$ berechnet: 317.1121, gefunden: 317.1204.

4-((4-(Pyridin-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)phenyl)amidin-Hydrochlorid (163)

(Z)-N'-Acetoxy-4-((4-(pyridin-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)benzimidamid (162) (15.0 mg, 44.6 μmol) wurde in einem Gemisch aus Methanol und Essigsäure (10:1, 2 mL) gelöst und 15 min mit Stickstoff gespült. Zu der Lösung wurden Pd/C (10%, 10 mg) gegeben und

ein Wasserstoff-Ballon wurde aufgesetzt. Der Kolben wurde vakuumiert und der Druckausgleich fand über den Ballon statt. Diese Prozedur wurde dreimal wiederholt und das Reaktionsgemisch wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde im Vakuum getrocknet und **4-((4-(Pyridin-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)phenyl)amidin-Hydrochlorid (163)** wurde als gelber Feststoff erhalten (11.1 mg, 35.3 μmol , 79%).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 9.41, (br s, 2H, NH_2), 9.20 (br s, 2H, NH_2), 8.95 (s, 1H), 8.65 (ddd, J = 5.0, 1.7, 0.6 Hz, 1H, H-13), 8.00 – 8.18 (m, 2H, H-13, H-14), 7.84 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H-2, H-6), 7.59 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H-3, H-5), 7.47 – 7.55 (m, 1H, H-15), 5.86 (s, 2H, H-8).

Rutheniumkomplex **164**

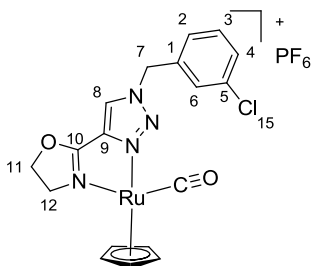
Der Ligand **153** (10.0 mg, 36.9 μmol) wurde in DMF (3.0 mL) gelöst und mit $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6^{[125]}$ (13.5 mg, 32.2 μmol) versetzt. Die gelbe Lösung wurde 16 h bei 90 °C gerührt und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung 100:3:1 \rightarrow 50:6:2). Die

vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet und der Rückstand in möglichst wenig Wasser aufgenommen. Der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **164** wurde als gelber Feststoff erhalten (14.0 mg, 21.5 μmol , 67%).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 8.93 (ddd, J = 5.7, 1.3, 0.9 Hz, 1H, H-11), 8.63 (s, 1H, H-8), 8.07 (td, J = 7.9, 1.3 Hz, 1H, H-13), 8.01 (ddd, J = 7.9, 1.6, 0.9 Hz, 1H, H-14), 7.47 – 7.48 (m, 1H), 7.45 – 7.46 (m, 2H), 7.42 (ddd, J = 7.4, 5.7, 1.6 Hz, 1H, H-12), 7.36 – 7.39 (m, 1H), 5.70 (s, 2H, H-8), 5.30 (s, 5H, C_5H_5).

$^{13}\text{C-NMR}$ (300 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 199.1 (C=O), 158.7, 151.1, 149.7, 140.5, 136.9, 135.4, 131.9, 130.2, 129.7, 128.2, 126.1, 126.0, 123.6, 83.4 (C_5H_5), 55.9 (C-7). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3132, 1964, 1620, 1579, 1453, 1428, 1354, 1273, 1244, 1216, 1164, 1123, 1098, 1054, 1000, 828, 772, 683, 553, 497, 473.

HRMS (ESI): $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{Cl}_1\text{N}_4\text{ORu}$ $[\text{M} - \text{PF}_6]^+$ berechnet: 465.0051, gefunden: 465.0057.

Rutheniumkomplex **165**

Der Ligand **154** (10.0 mg, 38.0 μmol) wurde in DMF (2.5 mL) gelöst und mit $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6^{[125]}$ (16.0 mg, 38.0 μmol) versetzt. Die gelbe Lösung wurde 4 h bei 90 °C gerührt und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung 50:3:1). Die vereinigten

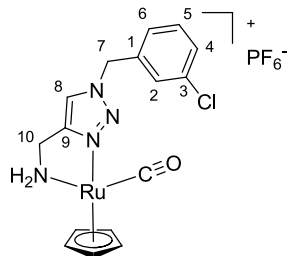
Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet und der Rückstand in möglichst wenig Wasser aufgenommen. Der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **165** wurde als brauner Feststoff erhalten (18.3 mg, 15.4 μmol , 41%).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 8.51 (s, 1H), 7.41 – 7.46 (m, 3H), 7.33 – 7.35 (m, 1H), 5.57 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 5.18 (s, 5H, C_5H_5), 4.95 (t, J = 9.7 Hz, 2H), 4.12 – 4.19 (m, 1H), 3.99 – 4.06 (m, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 198.4 (C=O), 162.6, 138.3, 136.6, 135.4, 131.8, 130.2, 129.7, 128.2, 127.6, 82.1 (C_5H_5), 75.0 (C-12), 57.6 (C-7), 56.0 (C-11). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3140, 2923, 1964, 1657, 1581,

1423, 1245, 1206, 1072, 826, 757, 691, 553, 495, 473, 416. **HRMS** (ESI): $C_{18}H_{16}ClN_4O_2Ru$ $[M - PF_6]^+$ berechnet: 457.0001, gefunden: 457.0007.

Rutheniumkomplex **166**

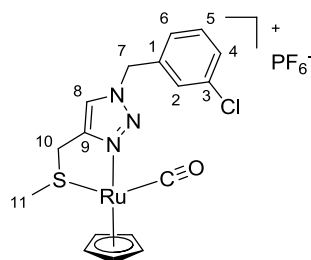


Der Ligand **160** (10.0 mg, 38.8 μ mol) wurde in Methanol (3.0 mL) gelöst, mit $[Ru(\eta^5-C_5H_5)(CO)(MeCN)_2]PF_6^{[125]}$ (18.9 mg, 44.9 μ mol) und mit Kaliumcarbonat (5.4 mg, 38.8 μ mol) versetzt. Die braune Lösung wurde 16 h bei 45 °C erwärmt und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 10:1). Die

vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand wurde in möglichst wenig Ethylacetat aufgenommen. Der Komplex wurde durch Zugabe von Hexan ausgefällt. Der gelb-braune Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Hexan gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **166** wurde als gelb-brauner Feststoff erhalten (4.0 mg, 7.17 μ mol, 16%).

1H -NMR (250 MHz, $MeCN-d_3$): δ = 7.84 (s, 1H, H-8), 7.43 – 7.47 (m, 2H, H-4, H-2), 7.37 (s, 1H, H-5), 7.26 – 7.30 (m, 1H, H-6), 5.56 (d, J = 3.0 Hz, 2H, H-7), 5.10 (s, 5H, C_5H_5), 4.77 (br s, 1H, NH), 4.46 (br s, 1H, NH), 3.96 (dddd, J = 15.5, 6.1, 4.5, 0.7 Hz, 1H, H-10), 3.72 (dt, J = 15.5, 6.8 Hz, 1H, H-10). **^{13}C -NMR** (63 MHz, $MeCN-d_3$): δ = 202.2 (C=O), 150.5, 137.6, 135.2, 131.7, 129.9, 129.2, 127.7, 122.6, 82.0 (C_5H_5), 55.3 (C-7), 41.2 (C-10). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3359, 3129, 2927, 2262, 1955, 1602, 1579, 1432, 1349, 1253, 1210, 1141, 1086, 1039, 996, 822, 777, 740, 687, 596, 553, 516, 480, 437. **HRMS** (ESI): $C_{16}H_{16}ClN_4ORu$ $[M - PF_6]^+$ berechnet: 417.0052, gefunden: 417.0054.

Rutheniumkomplex **167**

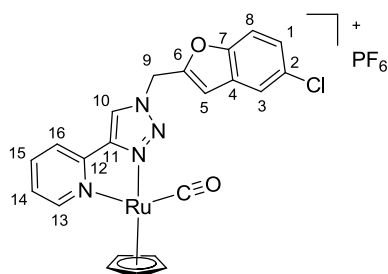


Der Ligand **156** (23.0 mg, 90.7 μ mol) wurde in DMF (2.0 mL) gelöst und mit $[Ru(\eta^5-C_5H_5)(CO)(MeCN)_2]PF_6^{[125]}$ (38.2 mg, 90.7 μ mol) versetzt. Die gelbe Lösung wurde 16 h bei 90 °C gerührt. Es wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung 50:3:1). Die vereinigten

Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet und der Rückstand in möglichst wenig Wasser aufgenommen. Der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **167** wurde als Gemisch zweier Diastereomere (1:1) erhalten, das nicht getrennt werden konnte (7.4 mg, 12.5 μ mol, 14%).

Diastereomer 1: $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 7.99 (s, 1H, H-8), 7.39 – 7.43 (m, 3H), 7.28 – 7.31 (m, 1H), 5.54 (d, J = 14.9 Hz, 2H, H-7), 5.25 (s, 5H), 3.73 – 4.06 (m, 2H, H-10), 2.42 (s, 3H, H-11). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 202.0 (C=O), 149.3, 137.3, 135.3, 131.8, 130.0, 129.3, 127.9, 125.1, 84.4 (C_5H_5), 55.6 (C-7), 37.7 (C-10), 27.6 (C-11). Diastereomer 2: $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 8.01 (s, 1H, H-8), 7.39 – 7.43 (m, 3H), 7.28 – 7.31 (m, 1H), 5.60 (d, J = 14.9 Hz, 2H, H-7), 5.28 (s, 5H, C_5H_5), 3.73 – 4.06 (m, 2H, H-10), 2.44 (s, 3H, H-11). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 202.0 (C=O), 148.3, 137.3, 135.3, 131.8, 130.0, 129.4, 128.0, 125.2, 83.4 (C_5H_5), 55.6 (C-7), 36.3 (C-10), 27.9 (C-11). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3120, 1974, 1576, 1426, 1347, 1256, 1209, 1136, 1087, 994, 839, 779, 729, 684, 556, 515, 478. **HRMS** (ESI): $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{ClN}_3\text{ORuS}$ [$\text{M} - \text{PF}_6$] $^+$ berechnet: 447.9824, gefunden: 447.9826

Rutheniumkomplex **168**

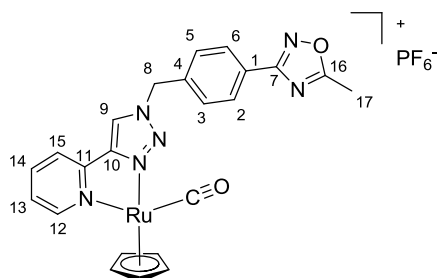


Der Ligand **158** (10.0 mg, 32.2 μmol) wurde in DMF (3.0 mL) gelöst und mit $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6^{[125]}$ (13.5 mg, 32.2 μmol) versetzt. Die gelbe Lösung wurde 16 h bei 90 °C gerührt und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges.

Kaliumnitrat-Lösung 100:3:1 \rightarrow 50:6:2) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. Der Rückstand wurde in möglichst wenig Wasser aufgenommen und der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **168** wurde als gelber Feststoff erhalten (14.0 mg, 21.5 μmol , 67%).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 8.85 (ddd, J = 5.5, 1.3, 0.9 Hz, 1H, H-13), 8.68 (s, 1H, H-10), 8.03 (dd, J = 1.5, 0.6 Hz, 1H, H-3), 7.96 – 7.98 (m, 3H, H-15, H-8, H-1), 7.68 (dd, J = 2.3, 0.7 Hz, 1H, H-16), 7.34 (ddd, J = 7.6, 5.7, 1.9 Hz, 1H, H-14), 7.12 (s, 1H, H-5), 5.85 (s, 2H, H-9), 5.16 (s, 5H, C_5H_5). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 198.1 (C=O), 157.8, 157.1, 151.9, 150.2, 148.6, 129.2, 128.4, 127.2, 125.4, 125.4, 125.1, 122.6, 112.8, 108.0, 107.2, 82.4 (C_5H_5), 48.6 (C-9). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3125, 2925, 2855, 2228, 1973, 1618, 1585, 1463, 1360, 1269, 1120, 840, 780, 557.

Rutheniumkomplex **169**



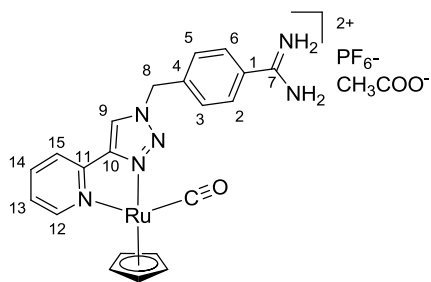
Der Ligand **162** (20.0 mg, 59.5 μmol) wurde in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol (1:1, 4.0 mL) gelöst und mit $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6^{[125]}$ (14.9 mg, 29.7 μmol) versetzt. Die gelbe Lösung wurde 16 h bei 45 °C gerührt, anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt und das

Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung 100:3:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der gelbe Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **169** wurde als brauner Feststoff erhalten (14.9 mg, 22.1 μmol , 67%).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 8.96 (ddd, J = 5.7, 1.2, 0.9 Hz, 1H, H-12), 8.68 (s, 1H, H-9), 8.13 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H-3, H-5), 8.02 – 8.10 (m, 2H, H-14, H-13), 7.60 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H-2, H-6), 7.44 (ddd, J = 7.4, 5.7, 1.7 Hz, 1H, H-15), 5.81 (d, J = 1.3 Hz, 2H, H-8), 5.27 (s, 5H, C_5H_5), 2.64 (s, 3H, H-17).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 199.1 (C=O), 178.7 (C-16), 168.7 (C-7), 158.7, 151.1, 139.7, 140.5, 137.8, 130.4, 128.84, 128.75, 126.2, 126.0, 123.6, 83.4 (C_5H_5), 56.3 (C-8), 12.6 (C-17).

Rutheniumkomplex **170**

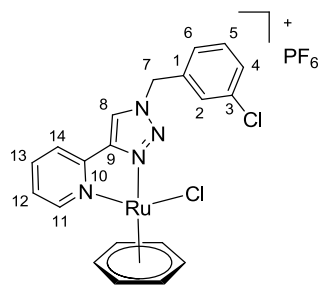


Rutheniumkomplex **169** (14.9 mg, 22.1 μmol) wurde in einem Gemisch aus Methanol und Essigsäure (10:1, 2 mL) gelöst und die Lösung wurde 15 min mit Stickstoff gespült. Zu der Lösung wurden Pd/C (10%, 10 mg) gegeben und ein Wasserstoff-Ballon wurde aufgesetzt. Der Kolben wurde vakuumiert und der Druckausgleich fand über den Ballon

statt. Diese Prozedur wurde dreimal wiederholt und das Reaktionsgemisch wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde im Vakuum getrocknet und Rutheniumkomplex **170** wurde als gelber Feststoff erhalten (14.1 mg, 20.8 μmol , 94%).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 8.96 (d, J = 5.5 Hz, 1H, H-12), 8.75 (s, 1H, H-9), 8.06 – 8.17 (m, 2H, H-13, H-14), 7.83 (d, J = 8.3 Hz, 2H, H-3, H-5), 7.62 (d, J = 8.3 Hz, 2H, H-2, H-6), 7.46 (ddd, J = 7.3, 5.7, 1.9 Hz, 1H, H-13), 7.44 (ddd, J = 7.4, 5.7, 1.7 Hz, 1H, H-15), 5.85 (d, J = 3.2 Hz, 2H, H-9), 5.27 (s, 5H, C_5H_5). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3379, 3138, 1973, 1687, 1621, 1585, 1421, 1124, 1051, 883, 782, 745, 585.

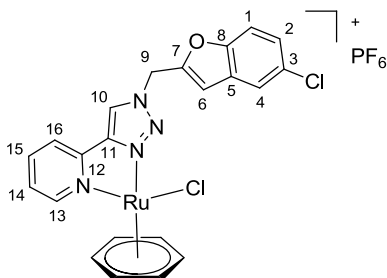
HRMS (ESI): $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_6\text{ORu}$ [$\text{M} - \text{PF}_6 - \text{CH}_3\text{COOH}$] $^+$ berechnet: 473.0661, gefunden: 473.0659.

Rutheniumkomplex **171**

Der Ligand **153** (10.0 mg, 36.9 μmol) wurde in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol (1:1, 3.0 mL) gelöst und mit $[\text{Ru}(\eta^6\text{-C}_6\text{H}_6)\text{Cl}_2]_2^{[101]}$ (13.5 mg, 27.7 μmol) versetzt. Die braune Lösung wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung. 50:3:1) und die

vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. Der Rückstand wurde in möglichst wenig Wasser aufgenommen und der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der gelbe Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **171** wurde als gelber Feststoff erhalten (20.6 mg, 32.7 μmol , 89%).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 9.33 (ddd, J = 5.9, 1.2, 0.8 Hz, 1H, H-11), 8.57 (s, 1H, H-8), 8.10 (td, J = 7.8, 1.4 Hz, 1H, H-4), 7.93 (ddd, J = 7.8, 1.4, 0.8 Hz, 1H, H-14), 7.57 (ddd, J = 7.8, 5.7, 1.4 Hz, 1H, H-12), 7.46 – 7.50 (m, 3H), 7.39 – 7.41 (m, 1H), 6.21 (s, 2H, H-7), 6.00 (s, 6H, C_6H_6). **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 156.6, 149.3, 147.7, 141.3, 136.8, 135.4, 131.9, 130.3, 129.7, 128.3, 127.0, 126.0, 123.5, 87.3 (C_6H_6), 56.1 (C-7). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3096, 1624, 1581, 1352, 836, 772, 684, 558. **HRMS** (ESI): $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{Ru}$ [$\text{M} - \text{PF}_6$] $^+$ berechnet: 484.9867, gefunden: 484.9873.

Rutheniumkomplex **175**

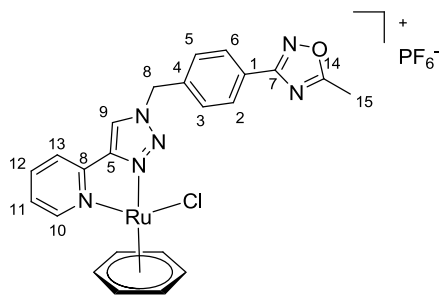
Der Ligand **158** (10.0 mg, 32.2 μmol) wurde in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol (1:1, 3.0 mL) gelöst und mit $[\text{Ru}(\eta^6\text{-C}_6\text{H}_6)\text{Cl}_2]_2^{[101]}$ (8.1 mg, 16.1 μmol) versetzt. Die braune Lösung wurde 16 h bei 45 °C gerührt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung 50:6:2). Die

vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet und der Rückstand in möglichst wenig Wasser aufgenommen. Der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der gelbe Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **175** wurde als gelber Feststoff erhalten (15.7 mg, 23.4 μmol , 73%).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 9.33 (ddd, J = 5.6, 1.2, 0.8 Hz, 1H, H-13), 8.67 (s, 1H, H-10), 8.12–8.13 (m, 1H, H-4), 8.09 (dd, J = 7.7, 1.5 Hz, 1H, H-15), 7.95 (ddd, J = 7.9, 1.4, 0.8 Hz, 1H, H-14), 7.71 (dd, J = 8.6, 1.6 Hz, 1H, H-2), 7.67 (dt, J = 8.6, 0.8 Hz, 1H, H-1), 7.57 (ddd, J = 7.9, 5.7, 1.4 Hz, 1H,

H-16), 7.22, (d, $J = 0.8$ Hz, 1H, H-6), 5.98 (s, 8H, C₆H₆, H-9). **¹³C-NMR** (100 MHz, MeCN-*d*₃): $\delta = 157.9$, 156.6, 152.4, 149.0, 147.7, 141.3, 130.2, 129.4, 128.1, 127.0, 126.2, 123.5, 113.7, 109.2, 108.2, 87.2 (C₆H₆), 49.7 (C-9). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3324, 3099, 2927, 2229, 1623, 1437, 1269, 1202, 1163, 1123, 831, 781, 557$.

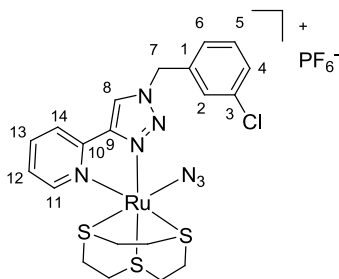
Rutheniumkomplex **176**



Der Ligand **162** (20.0 mg, 59.5 μ mol) wurde in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol (1:1, 4.0 mL) gelöst und mit [Ru(η^6 -C₆H₆)Cl₂]^[101] (14.9 mg, 29.7 μ mol) versetzt. Die braune Lösung wurde 16 h bei 40 °C gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung 50:3:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und der Komplex durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **176** wurde als gelber Feststoff erhalten (31.1 mg, 44.7 μ mol, 75%).

¹H-NMR (300 MHz, MeCN-*d*₃): $\delta = 9.36$ (ddd, $J = 5.7, 1.3, 0.8$ Hz, 1H, H-10), 8.61 (s, 1H, H-9), 8.07 – 8.16 (m, 3H, H-2, H-6, H-12), 7.96 (ddd, $J = 7.9, 1.4, 0.8$ Hz, 1H, H-11), 7.57 – 7.64 (m, 3H, H-2, H-6, H-13), 6.02 (s, 6H, C₆H₆), 5.88 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H, H-8), 2.64 (s, 3H, H-15). **¹³C-NMR** (125 MHz, MeCN-*d*₃): $\delta = 178.7$ (C-14), 168.7 (C-7), 156.6, 149.3, 147.7, 141.3, 137.6, 130.4, 128.9, 128.8, 127.0, 126.0, 123.5, 87.3 (C₅H₅), 56.5 (C-8), 12.6 (C-15). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3094, 1973, 1623, 1593, 1427, 1358, 1270, 1161, 836, 781, 744, 558, 515, 439$.

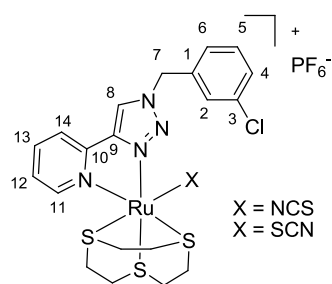
Rutheniumkomplex **178**



Der Ligand **153** (10.0 mg, 36.9 μ mol) wurde in DMF (3.0 mL) gelöst und mit [Ru([9]aneS₃)(MeCN)₃](CF₃SO₃)₂^[105] (25.8 mg, 36.9 μ mol) versetzt. Die gelbe Lösung wurde 16 h bei 90 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Natriumazid (2.4 mg, 36.9 μ mol) versetzt und weitere 3 h bei 90 °C gerührt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der gelbe Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **178** wurde als gelber Feststoff erhalten (22.6 mg, 30.6 μ mol, 83%).

¹H-NMR (500 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 8.98 (ddd, J = 5.6, 1.2, 0.9 Hz, 1H, H-11), 8.66 (s, 1H, H-8), 8.03 – 8.11 (m, 2H, H-12, H-13), 7.53 (ddd, J = 7.9, 5.6, 2.1 Hz, 1H, H-14), 7.46 – 7.51 (m, 3H, H-4, H-5, H-6), 7.38 – 7.41 (m, 1H, H-2), 5.73 (s, 2H, H-8), 2.86 – 3.08 (m, 4H, H_{Trithia}), 2.63 – 2.79 (m, 4H, H_{Trithia}), 2.24 – 2.39 (m, 4H, H_{Trithia}). **¹³C-NMR** (125 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 153.5, 150.1, 147.8, 138.6, 136.2, 134.4, 130.1, 129.1, 128.5, 127.1, 125.8, 125.1, 122.3, 54.7 (C-8), 34.0 (C_{Trithia}), 33.0 (C_{Trithia}), 32.0 (C_{Trithia}), 32.1 (C_{Trithia}), 30.9 (C_{Trithia}), 29.7 (C_{Trithia}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3047, 1594, 1504, 1456, 1362, 1282, 1226, 1150, 1087, 998, 849, 817, 742, 700, 634, 591, 480, 389. **HRMS** (ESI): C₂₀H₂₃ClN₇RuS₄ [M - PF₆]⁺ berechnet: 609.9562, gefunden: 609.9562.

Rutheniumkomplex **179**



Der Ligand **153** (10.0 mg, 36.9 μ mol) wurde in DMF (3.0 mL) gelöst und mit [Ru([9]aneS₃)(MeCN)₃](CF₃SO₃)₂^[105] (25.8 mg, 36.9 μ mol) versetzt. Die gelbe Lösung wurde 16 h bei 90 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Natriumthiocyanat (3.0 mg, 36.9 μ mol) versetzt und weitere 3 h bei 90 °C gerührt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, das Lösungsmittel im

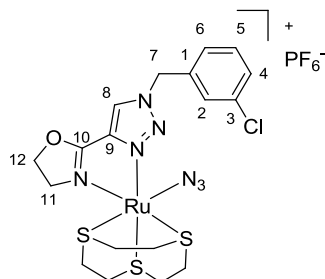
Vakuum entfernt und der Rückstand in möglichst wenig Wasser aufgenommen. Der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der gelbe Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **179** wurde als Gemisch (2:1) zweier Isomere erhalten (23.1 mg, 30.6 μ mol, 83%), die nicht säulenchromatographisch voneinander getrennt werden konnten. In verschiedenen Studien wurde das *N*-gebundene Isomer als Hauptprodukt identifiziert.^[106,178] Des Weiteren deuten die charakteristischen Verschiebungen bei 134.4 ppm für das *N*-gebundene Thiocyanat, sowie 123.1 ppm für das *S*-gebundene Thiocyanat auf diese Verteilung der Isomere hin.

N-gebundenes Isomer: **¹H-NMR** (500 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 8.93 (ddd, J = 5.6, 1.4, 0.9 Hz, 1H, H-11), 8.66 (s, 1H, H-8), 8.07 (td, J = 7.8, 1.4 Hz, 1H, H-13), 8.02 – 8.04 (m, 1H, H-6), 7.51 (ddd, J = 7.3, 5.5, 1.7 Hz, 1H, H-12), 7.50 (s, 1H, H-2), 7.41 – 7.46 (m, 2H, H-4, H-5), 7.34 – 7.39 (m, 1H, H-14), 5.70 (s, 2H, H-7), 2.89 – 3.18 (m, 4H, H_{Trithia}), 2.61 – 2.82 (m, 4H, H_{Trithia}), 2.17 – 2.47 (m, 4H, H_{Trithia}). **¹³C-NMR** (125 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 162.5, 153.7, 150.1, 147.8, 139.0, 136.0, 134.4, 130.9, 129.2, 129.1, 128.8, 127.3, 126.0, 125.3, 122.5, 54.9 (C-8), 35.2 (C_{Trithia}), 34.4 (C_{Trithia}), 33.4 (C_{Trithia}), 31.9 (C_{Trithia}), 31.3 (C_{Trithia}), 30.4 (C_{Trithia}).

S-gebundenes Isomer: **¹H-NMR** (500 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 8.84 (ddd, J = 5.6, 1.4, 0.9 Hz, 1H, H-11), 8.64 (s, 1H, H-8), 8.13 (td, J = 7.8, 1.4 Hz, 1H, H-13), 8.02 – 8.04 (m, 1H, H-6), 7.57 (ddd, J = 7.3, 5.5, 1.7 Hz, 1H, H-12), 7.50 (s, 1H, H-2), 7.41 – 7.46 (m, 2H, H-4, H-5), 7.34 – 7.39 (m, 1H, H-6), 5.71 (s, 2H, H-7), 2.89 – 3.18 (m, 4H, H_{Trithia}), 2.61 – 2.82 (m, 4H, H_{Trithia}), 2.17 – 2.47 (m, 4H, H_{Trithia}). **¹³C-NMR**

(125 MHz, MeCN- d_3): δ = 162.5, 153.6, 149.9, 147.7, 138.6, 136.2, 130.8, 129.1, 128.5, 127.1, 125.9, 125.3, 123.1, 122.4, 54.7 (C-8), 35.5 (C_{Trithia}), 34.7 (C_{Trithia}), 32.5 (C_{Trithia}), 31.6 (C_{Trithia}), 30.4 (C_{Trithia}), 30.0 (C_{Trithia}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3232, 2100, 1620, 1429, 1254, 1172, 1032, 840, 773, 681, 641, 559, 443. **HRMS** (ESI): C₂₁H₂₃ClN₅RuS₄ [M - PF₆]⁺ berechnet: 609.9562, gefunden: 609.9562.

Rutheniumkomplex **180**

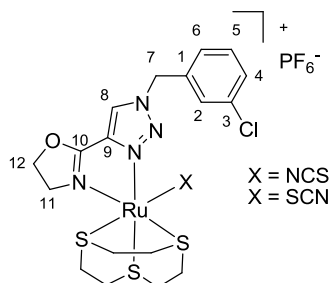


Der Ligand **154** (10.0 mg, 38.0 μ mol) wurde in DMF (2.5 mL) gelöst und mit [Ru([9]aneS₃)(MeCN)₃](CF₃SO₃)₂^[105] (26.6 mg, 38.0 μ mol) versetzt. Die gelbe Lösung wurde 16 h bei 90 °C gerührt, mit Natriumazid (2.6 mg, 38.0 μ mol) versetzt und weitere 2 h bei 90 °C gerührt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch

gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung 50:3:1). Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet und der Rückstand in möglichst wenig Wasser aufgenommen. Der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt, zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **180** wurde als gelber Feststoff erhalten (23.4 mg, 30.8 μ mol, 81%).

¹H-NMR (300 MHz, MeCN- d_3): δ = 8.52 (s, 1H, H-8), 7.32 – 7.49 (m, 4H, H-2, H-4, H-5, H-6), 5.69 (s, 2H, H-7), 4.89 – 5.04 (m, 2H, H-11), 4.00 – 4.23 (m, 2H, H-12), 2.18 – 2.98 (m, 12H, H_{Trithia}). **¹³C-NMR** (100 MHz, MeCN- d_3): δ = 163.9 (C-10), 137.9, 136.9, 135.3, 131.8, 130.1, 129.5, 128.1, 127.5, 74.4 (C-7), 55.8 (C-11), 54.5 (C-12), 35.9 (C_{Trithia}), 35.0 (C_{Trithia}), 34.1 (C_{Trithia}), 33.3 (C_{Trithia}), 32.7 (C_{Trithia}), 30.6 (C_{Trithia}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 2029, 1654, 1576, 1420, 1299, 1242, 1073, 839, 762, 558. **HRMS** (ESI): C₁₈H₂₃ClN₇O₁RuS₃ [M – PF₆]⁺ berechnet 585.9852, gefunden: 585.9858.

Rutheniumkomplex **181**



Der Ligand **154** (10.0 mg, 38.0 μ mol) wurde in DMF (2.5 mL) gelöst und mit [Ru([9]aneS₃)(MeCN)₃](CF₃SO₃)₂^[105] (26.6 mg, 38.0 μ mol) versetzt. Die gelbe Lösung wurde 16 h bei 90 °C gerührt, mit Natriumthiocyanat (2.9 mg, 37.0 μ mol) versetzt und 3 h bei 90 °C gerührt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der

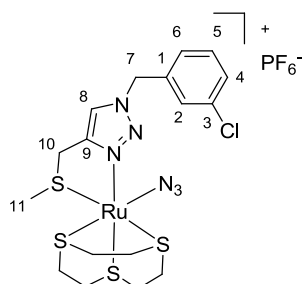
Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung 50:6:2). Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet und der Rückstand in möglichst wenig Wasser aufgenommen. Der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt, zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Rutheniumkomplex **181** wurde als Gemisch zweier Isomere (2:1) erhalten (10.3 mg, 13.8 μmol , 37%). In verschiedenen Studien wurde das *N*-gebundene Isomer als Hauptprodukt identifiziert und somit wird auch hier von diesem Fall ausgegangen.^[106,178] Des Weiteren deuten die charakteristischen Verschiebungen bei 134.4 ppm für das *N*-gebundene Thiocyanat, sowie 127.6 ppm für das *S*-gebundene Thiocyanat auf diese Verteilung der Isomere hin.

N-gebundenes Isomer: **¹H-NMR** (500 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 8.50 (s, 1H, H-8), 7.30 – 7.44 (m, 4H, H-2, H-4, H-5, H-6), 5.67 (s, 2H, H-7), 4.88 – 5.02 (m, 2H, H-11), 3.97 – 4.16 (m, 2H, H-12), 2.16 – 3.01 (m, 12H, H_{Trithia}). **¹³C-NMR** (125 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 163.9, 138.0, 136.7, 135.4, 131.9, 131.6, 130.2, 129.8, 128.3, 127.8, 74.4, 56.0, 54.6, 35.9, 35.4, 34.5, 33.3, 33.2, 30.9.

S-gebundenes Isomer: **¹H-NMR** (500 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 8.49 (s, 1H, H-8), 7.30 – 7.44 (m, 4H, H-2, H-4, H-5, H-6), 5.68 (s, 2H, CH₂), 4.88 – 5.02 (m, 2H), 3.97 – 4.16 (m, 2H), 2.16 – 3.01 (m, 12H). **¹³C-NMR** (125 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 163.8, 137.8, 136.9, 135.3, 131.8, 130.1, 129.5, 128.1, 127.8, 127.6, 74.7, 55.9, 54.1, 36.7, 35.7, 34.7, 34.2, 32.6, 30.1. **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3318, 2360, 2101, 1650, 1576, 1421, 1242, 1124, 839, 531. **HRMS** (ESI): C₁₉H₂₃ClN₅ORuS₄ [M - PF₆]⁺ berechnet: 601.9511, gefunden: 601.9520.

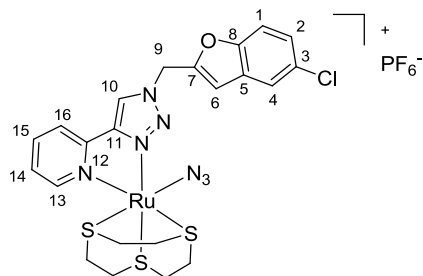
Rutheniumkomplex **182**



Der Ligand **156** (10.0 mg, 39.4 μmol) wurde in DMF (3.0 mL) gelöst und mit [Ru([9]aneS₃)(MeCN)₃](CF₃SO₃)₂^[105] (27.6 mg, 39.4 μmol) versetzt. Die gelbe Lösung wurde 16 h bei 90 °C gerührt, mit Natriumazid (2.6 mg, 39.4 μmol) versetzt und weitere 2 h bei 90 °C gerührt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt

(Acetonitril/Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung 50:3:1). Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet und der Rückstand in möglichst wenig Wasser aufgenommen. Der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Ruthenium Komplex **182** wurde als Gemisch (1:1) zweier Diastereomere erhalten (4.0 mg, 5.54 μmol , 14%).

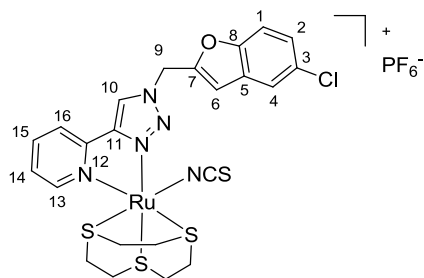
Isomer 1: **¹H-NMR** (300 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 8.02 (s, 1H, H-8), 7.36 – 7.41 (m, 3H), 7.25 – 7.29 (m, 1H), 5.56 (s, 2H, H-7), 3.78 – 4.18 (m, 2H, H-10), 2.32 – 3.08 (m, 15H, H_{Trithia}, H-11). Isomer 2: **¹H-NMR** (300 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 7.97 (s, 1H), 7.36 – 7.41 (m, 3H), 7.25 – 7.29 (m, 1H), 5.56 (s, 2H), 3.78 – 4.18 (m, 2H), 2.32 – 3.08 (m, 15H). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3158, 2929, 2229, 2030, 1576, 1414, 1344, 1255, 1209, 1133, 1086, 1036, 969, 837, 779, 730, 681, 589, 557, 441. **HRMS** (ESI): C₁₇H₂₄ClN₆RuS₄ [M - PF₆]⁺ berechnet: 447.9824, gefunden: 447.9826.

Rutheniumkomplex **186**

Der Ligand **158** (10.0 mg, 32.2 μmol) wurde in DMF (3.0 mL) gelöst und $[\text{Ru}([9]\text{aneS}_3)(\text{MeCN})_3](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2^{[105]}$ (20.0 mg, 28.5 μmol) wurde hinzugegeben. Die gelbe Lösung wurde 16 h bei 90 °C gerührt, anschließend mit Natriumazid (2.2 mg, 32.2 μmol) versetzt und weitere 5 h bei 90 °C gerührt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in

Wasser aufgenommen und der Komplex durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **186** wurde als gelber Feststoff erhalten (22.5 mg, 18.9 μmol , 89%).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 8.94 (dt, J = 5.6, 0.9 Hz, 1H, H-13), 8.74 (s, 1H, H-10), 8.08 – 8.09 (m, 1H, H-15), 8.02 – 8.04 (m, 1H, H-14), 7.95 (s, 1H, H-4), 7.70 (dd, J = 8.7, 1.7 Hz, 1H, H-2), 7.64 (dt, J = 8.7, 0.8 Hz, 1H, H-1), 7.48 – 7.52 (m, 1H, H-16), 7.16 (s, 1H, H-6), 5.92 (s, 2H, H-9), 2.22 – 3.05 (m, 12H, $\text{H}_{\text{Trithia}}$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (125 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 157.0, 154.5, 152.9, 151.0, 148.9, 139.6, 130.1, 129.5, 128.1, 126.8, 126.2, 123.3, 113.7, 108.8, 108.1, 49.4 (C-9), 36.2 ($\text{C}_{\text{Trithia}}$), 35.0 ($\text{C}_{\text{Trithia}}$), 34.0 ($\text{C}_{\text{Trithia}}$), 33.1 ($\text{C}_{\text{Trithia}}$), 31.9 ($\text{C}_{\text{Trithia}}$), 30.7 ($\text{C}_{\text{Trithia}}$). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3104, 2228, 2030, 1615, 1449, 1415, 1360, 1267, 1165, 1122, 1032, 842, 780, 640, 559.

Rutheniumkomplex **187**

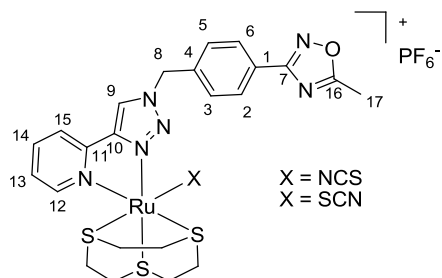
Der Ligand **158** (10.0 mg, 32.2 μmol) wurde in DMF (4.0 mL) gelöst und $[\text{Ru}([9]\text{aneS}_3)(\text{MeCN})_3](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2^{[105]}$ (20.0 mg, 32.2 μmol) wurde hinzugegeben. Die gelbe Lösung wurde 16 h bei 90 °C gerührt, anschließend mit Natriumthiocyanat (4.8 mg, 59.5 μmol) versetzt und weitere 3 h bei 90 °C gerührt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand

wurde in möglichst wenig Wasser aufgenommen und der Komplex durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **187** wurde als gelber Feststoff erhalten (8.1 mg, 11.7 μmol , 36%). Es konnte nur eines der beiden Isomere sauber isoliert werden. In verschiedenen Studien wurde das *N*-gebundene Isomer als Hauptprodukt identifiziert.^[106,178] Des Weiteren deutet die Verschiebung bei 129.6 ppm auf das *N*-gebundene Thiocyanat hin.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 8.94 (dt, J = 5.5, 1.1 Hz, 1H, H-13), 8.74 (s, 1H, H-10), 8.09 (dd, 1H, J = 1.5, 0.6 Hz, H-15), 8.02 – 8.04 (m, 1H, H-14), 7.95 (s, 1H, H-4), 7.70 (dd, J = 8.7, 1.7 Hz, 1H, H-2),

7.64 (dt, $J = 8.7, 0.8$ Hz, 1H, H-1), 7.47 – 7.52 (m, 1H, H-16), 7.17 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H, H-6), 5.92 (s, 2H, H-9), 2.16 – 2.99 (m, 12H, H_{Trithia}). **¹³C-NMR** (100 MHz, MeCN-*d*₃): $\delta = 158.0, 154.7, 152.7, 150.1, 149.0, 140.1, 130.2, 129.6$ (N=C=S), 128.1, 127.1, 126.4, 123.6, 120.0, 113.8, 109.0, 108.2, 49.5 (C-9), 36.2 (C_{Trithia}), 35.4 (C_{Trithia}), 34.4 (C_{Trithia}), 33.0 (C_{Trithia}), 32.3 (C_{Trithia}), 31.0 (C_{Trithia}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3317, 3102, 2930, 2361, 2218, 2076, 1665, 1616, 1446, 1359, 1268, 1122, 1031, 840, 780, 527$.

Rutheniumkomplex **188**

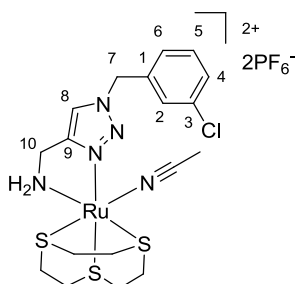


Der Ligand **162** (20.0 mg, 59.5 μ mol) wurde in DMF (4.0 mL) gelöst und [Ru([9]aneS₃)(MeCN)₃](CF₃SO₃)₂^[105] (41.7 mg, 59.5 μ mol) wurde zugegeben. Die gelbe Lösung wurde 16 h bei 90 °C gerührt, mit Natriumthiocyanat (4.8 mg, 59.5 μ mol) versetzt und weitere 3 h bei 90 °C gerührt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und der Komplex durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **188** wurde als gelber Feststoff in Form zweier Isomere (2:1) erhalten (45.9 mg, 53.3 μ mol, 90%). In verschiedenen Studien wurde das *N*-gebundene Isomer als Hauptprodukt identifiziert.^[106,178] Des Weiteren deuteten alle hier untersuchten Verbindungen auf die Bildung des *N*-gebundenen Isomers als Hauptprodukt hin.

N-gebundenes Isomer: **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 9.34$ (s, 1H, H-5), 8.97 (d, $J = 5.4$, 1H, H-6), 7.95 – 8.34 (m, 4H, H_{arom.}), 7.56 – 7.63 (m, 3H, H_{arom.}), 7.09 (br s, 2H, NH₂), 5.98 (s, 2H, CH₂), 2.37 – 3.08 (m, 15H, H_{Trithia}, CH₃).

S-gebundenes Isomer: **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 9.31$ (s, 1H, H-5), 8.86 (d, $J = 5.4$, 1H, H-6), 7.95 – 8.34 (m, 4H, H_{arom.}), 7.56 – 7.63 (m, 3H, H_{arom.}), 7.09 (br s, 2H, NH₂), 5.98 (s, 2H, CH₂), 2.37 – 3.08 (m, 15H, H_{Trithia}, CH₃). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 1689, 1613, 1446, 1362, 1273, 1166, 1031, 836, 767, 642, 559, 402$

Rutheniumkomplex **189**

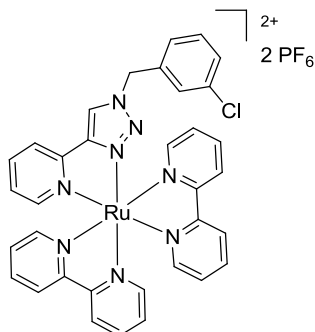


Der Ligand **160** (44.0 mg, 170 μ mol) wurde in DMF (3.0 mL) gelöst, mit [Ru([9]aneS₃)(MeCN)₃](CF₃SO₃)₂^[105] (128 mg, 176 μ mol) und Kaliumcarbonat (25.0 mg, 176 μ mol) versetzt. Die gelbe Lösung wurde 16 h bei 90 °C gerührt. Es wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges.

Kaliumnitrat-Lösung 50:3:1). Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen. Der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der gelbe Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **189** wurde als gelber Feststoff erhalten (54.2 mg, 65.5 μ mol, 37%).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 7.98 (s, 1H, H-8), 7.28 – 7.44 (m, 4H, H-2, H-4, H-5, H-6), 5.60 (s, 2H, H-7), 4.82 – 5.11 (m, 1H, H-10), 4.14 – 4.21 (m, 1H, H-10), 3.90 – 4.21 (m, 2H, NH_2), 2.21 – 3.00 (m, 12H, $\text{H}_{\text{Trithia}}$), 2.27 (s, 3H, CH_3). **HRMS** (ESI): $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{ClN}_5\text{RuS}_3\text{PF}_6$ $[\text{M} - \text{PF}_6]^+$ berechnet: 689.9717, gefunden: 689.9707.

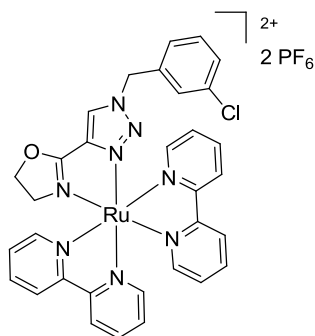
Rutheniumkomplex **193**



Der Ligand **153** (10.0 mg, 36.9 μ mol) wurde in Ethanol (3.0 mL) gelöst und mit $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}^{[170]}$ (19.2 mg, 36.9 μ mol) versetzt. Die violette Suspension wurde 3 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Die rote Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges, Kaliumnitrat-Lösung 50:3:1) und die vereinigten Produktfraktionen

im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde in möglichst wenig Wasser aufgenommen und der Komplex durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der rote Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **193** wurde als roter Feststoff erhalten (20.7 mg, 21.3 μ mol, 58%).

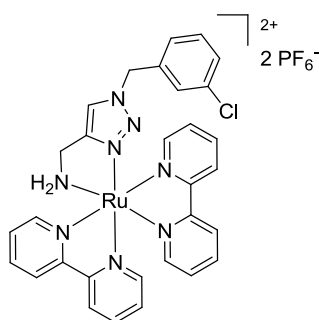
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 8.64 (s, 1H), 8.51 (dd, J = 8.1, 3.2 Hz, 2H), 8.44 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.42 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.04 – 8.09 (m, 5H), 8.00 (td, J = 7.6, 1.5 Hz, 1H), 7.97 (td, J = 7.8, 1.4 Hz, 1H), 7.87 (dq, J = 5.7, 0.7 Hz, 1H), 7.80 (dq, J = 5.6, 0.7 Hz, 1H), 7.73 (dq, J = 5.6, 0.7 Hz, 1H), 7.60 (dq, J = 5.6 Hz, 0.7 Hz, 1H), 7.44 (ddd, J = 7.6, 5.6, 1.3 Hz, 1H), 7.38 – 7.42 (m, 3H), 7.32 – 7.36 (m, 2H), 7.29 (ddd, J = 7.6, 5.7, 1.5 Hz, 1H), 7.15 (t, J = 1.7 Hz, 1H), 7.11 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 5.51 (s, 2H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (125 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 158.7, 158.3, 158.2, 153.2, 153.1, 152.8, 152.7, 151.8, 148.9, 139.2, 138.9, 138.8, 138.7, 138.6, 136.9, 135.3, 131.7, 130.0, 128.6, 128.5, 127.8, 127.7, 126.9, 125.3, 125.2, 124.8, 124.5, 123.8, 55.7. **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3323, 1443, 833, 765, 557. **HRMS** (ESI): $\text{C}_{34}\text{H}_{26}\text{ClN}_8\text{Ru}$ $[\text{M} - \text{H} - 2\text{PF}_6]^+$ berechnet: 683.1010, gefunden: 683.1002.

Rutheniumkomplex **194**

Der Ligand **154** (20.0 mg, 75.1 μmol) wurde in Ethanol (3.0 mL) gelöst und mit $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}^{[170]}$ (39.6 mg, 76.1 μmol) versetzt. Die lila Suspension wurde 3 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Die rote Lösung wurde abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung 50:3:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum vom Lösungsmittel befreit.

Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und der Komplex durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der rote Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **194** wurde als roter Feststoff erhalten (15.2 mg, 15.7 μmol , 21%).

^1H -NMR (500 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 8.53 (ddd, J = 5.7, 2.2, 0.7 Hz, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.50 (ddd, J = 8.1, 1.1, 0.7 Hz, 1H), 8.44 (dd, J = 5.1, 1.2, 0.7 Hz, 2H), 8.43 (ddd, J = 5.1, 1.3, 0.7 Hz, 1H), 8.39 (ddd, J = 8.4, 1.1, 0.7 Hz, 1H), 8.14 (td, J = 7.7, 1.6 Hz, 1H), 8.10 (td, J = 7.6, 1.5 Hz, 1H), 7.96 – 8.01 (m, 2H), 7.91, (ddd, J = 5.7, 1.7, 0.7 Hz, 1H), 7.83 (ddd, J = 5.7, 1.5, 0.7 Hz, 1H), 7.69 (ddd, J = 5.7, 1.5, 0.7 Hz, 1H), 7.60 (ddd, J = 7.6, 5.5, 1.3.7 Hz, 1H), 7.56 (ddd, J = 7.6, 5.5, 1.3 Hz, 1H), 7.29 – 7.40 (m, 4H), 7.06 – 7.11 (m, 2H), 5.50 (s, 2H), 4.94 – 4.99 (m, 1H), 4.73 – 4.79 (m, 1H), 3.66 – 3.73 (m, 1H), 3.05 – 3.15 (m, 1H). **^{13}C -NMR** (125 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 164.6, 159.1, 158.6, 158.3, 158.1, 154.1, 153.6, 153.5, 138.7, 138.6, 138.4, 136.6, 135.2, 131.7, 130.1, 129.1, 128.8, 128.5, 128.3, 127.8, 127.6, 124.8, 124.7, 124.6, 124.4, 74.6, 55.8, 51.7. **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3328, 1643, 1604, 1577, 1423, 1241, 1073, 838, 765, 559. **HRMS** (ESI): $\text{C}_{32}\text{H}_{27}\text{ClN}_8\text{O}_1\text{RuPF}_6$ $[\text{M} - \text{PF}_6]^+$ berechnet 812.0681, gefunden: 821.0664.

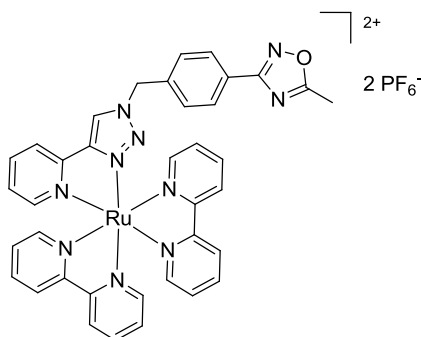
Rutheniumkomplex **195**

Der Ligand **160** (10.0 mg, 38.8 μmol) wurde in Ethanol (3.0 mL) gelöst und mit $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}^{[170]}$ (20.2 mg, 38.8 μmol) sowie Kaliumcarbonat (5.4 mg, 38.8 μmol) versetzt. Die violette Suspension wurde 3 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Es wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in möglichst wenig Wasser aufgenommen. Der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat

ausgefällt. Der rote Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **195** wurde als roter Feststoff erhalten (12.5 mg, 13.5 μmol , 30%).

¹H-NMR (400 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 9.05 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 8.54 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.41 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 8.12 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.15 (td, *J* = 8.1, 1.2 Hz, 1H), 8.06 – 8.11 (m, 3H), 7.86 – 7.93 (m, 4H), 7.63 (ddd, *J* = 7.6, 5.7, 1.1 Hz, 1H), 7.60 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.57 (ddd, *J* = 5.7, 4.5, 1.1 Hz, 1H), 7.35 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.31 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.25 (ddd, *J* = 7.7, 5.9, 1.0 Hz, 1H), 7.21 (d, *J* = 7.7, 5.6, 1.2 Hz, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.95 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 5.36 (s, 2H), 4.59 – 4.65 (m, 1H), 4.13 – 4.19 (m, 1H), 3.85 – 3.91 (m, 2H). **¹³C-NMR** (125 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 159.5, 159.2, 158.9, 153.9, 153.4, 151.0, 138.3, 137.8, 137.7, 137.4, 131.6, 129.7, 128.6, 128.3, 127.9, 127.2, 127.2, 125.0, 124.7, 124.5, 124.3, 124.2, 123.6, 55.0, 40.6. **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3152, 2923, 1602, 1440, 1334, 1158, 1087, 1031, 832, 761, 730, 554, 481, 423. **HRMS** (ESI): C₃₀H₂₇ClF₆N₈PRu [M – PF₆]⁺ berechnet: 781.0732, gefunden: 781.0755.

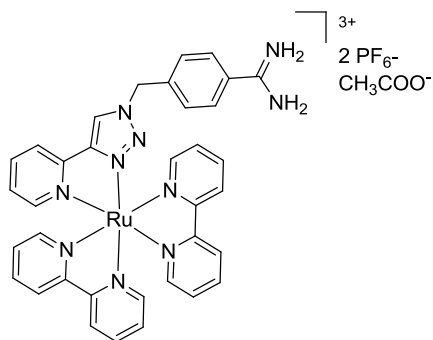
Rutheniumkomplex **198**



Der Ligand **162** (20.0 mg, 59.5 μ mol) wurde in Ethanol (4.0 mL) gelöst und mit [Ru(bpy)₂Cl₂] · 2H₂O^[170] (28.8 mg, 59.5 μ mol) versetzt. Die violette Suspension wurde 2 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung 50:3:1) und die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet.

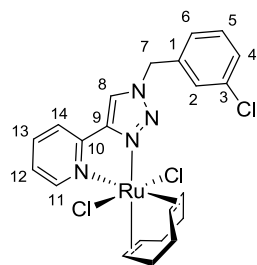
Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und der Komplex durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **198** wurde als roter Feststoff erhalten (31.9 mg, 29.9 μ mol, 50%).

¹H-NMR (300 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 8.69 (s, 1H), 8.54 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 8.45 (t, *J* = 8.1 Hz, 2H), 8.06 – 8.12 (m, 4H), 8.04 (d, *J* = 8.4 Hz, 4H), 7.99 (dd, *J* = 7.9, 1.7 Hz, 2H), 7.83 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.76 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.62 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.40 – 7.49 (m, 3H), 7.28 – 7.37 (m, 4H), 5.62 (s, 2H), 2.65 (s, 3H). **¹³C-NMR** (100 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 151.8, 148.9, 139.3, 138.8, 138.7, 138.6, 137.7, 129.9, 128.7, 128.6, 128.5, 127.8, 128.5, 127.8, 127.0, 125.3, 126.9, 125.3, 125.2, 124.8, 124.5, 123.8, 56.1, 12.6. **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3126, 2931, 1731, 1599, 1447, 1424, 1359, 1266, 1123, 1041, 838, 768, 558, 427.

Rutheniumkomplex **199**

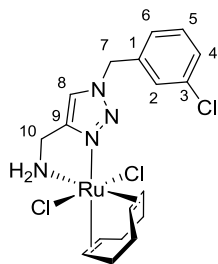
Rutheniumkomplex **198** (31.1 mg, 29.9 μmol) wurde in einem Gemisch aus Methanol und Essigsäure (10:1, 2 mL) gelöst und die Lösung wurde 15 min mit Stickstoff gespült. Zu der Lösung wurden Pd/C (10%, 10 mg) gegeben und ein Wasserstoff-Ballon wurde aufgesetzt. Der Kolben wurde vakuumiert und der Druckausgleich fand über den Ballon statt. Diese Prozedur wurde dreimal wiederholt und das Reaktionsgemisch wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde im Vakuum getrocknet und Rutheniumkomplex **199** wurde als roter Feststoff erhalten (29.0 mg, 27.8 μmol , 93%).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 8.75 (s, 1H), 8.54 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 8.48 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 8.44 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 8.07 – 8.14 (m, 4H), 8.01 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 7.92 (t, J = 3.9 Hz, 2H), 7.84 (d, J = 5.2, 1H), 7.72 – 7.76 (m, 2H), 7.63 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 7.41 – 7.50 (m, 4 H), 7.28 – 7.37 (m, 4H), 5.66 (s, 2H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 158.7, 158.3, 158.3, 153.2, 152.8, 152.7, 151.7, 149.0, 139.3, 138.9, 138.8, 138.8, 138.7, 128.6, 128.5, 128.5, 127.8, 127.2, 127.1, 125.3, 125.2, 124.8, 124.5, 123.9, 55.8, 29.9. **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3385, 2923, 1687, 1613, 1560, 1448, 1269, 840, 767, 558.

Rutheniumkomplex **200**

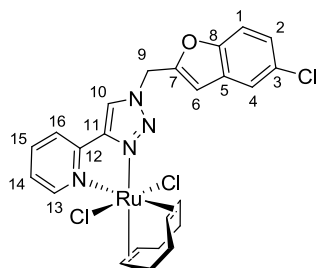
Der Ligand **153** (10.0 mg, 36.9 μmol) wurde in Chloroform (3.0 mL) gelöst und mit $[\text{Ru}(\text{COD})(\text{MeCN})_2\text{Cl}_2]^{[137]}$ (13.4 mg, 36.9 μmol) versetzt. Die gelbe Lösung wurde 3 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 10:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **200** wurde als gelber Feststoff erhalten (11.7 mg, 21.2 μmol , 58%). Der Koordinationsmodus wurde anhand der charakteristischen Verschiebungen der olefinischen COD-Protonen bestimmt.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 8.08 (s, 1H, H-8), 7.99 (d, J = 5.4 Hz, 1H, H-11), 7.72 (td, J = 8.6, 1.7 Hz, 1H, H-12), 7.65 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-13), 7.20 – 7.28 (m, 4H, H-2, H-4, H-5, H-6), 7.11 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-14), 5.46 (s, 2H, H-7), 4.86 (s, 2H, H_{COD}), 4.63 (s, 2H, H_{COD}), 2.56 (d, J = 8.6 Hz, 4H, H_{COD}), 2.21 (d, J = 8.6 Hz, 4H, H_{COD}). **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3): δ = 150.4, 150.0, 148.4, 138.1, 135.1, 134.7, 130.7, 129.5, 128.7, 126.6, 125.0, 123.2, 122.0, 92.1 (C_{COD}), 89.5 (C_{COD}), 54.8 (C-7), 29.5 (C_{COD}), 29.2 (C_{COD}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3096, 3040, 2958, 2931, 2879, 1668, 1613, 1577, 1508, 1456, 1431, 1343, 1264, 1219, 1164, 1039, 869, 760, 708, 552, 441. **HRMS** (ESI): $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{ClN}_4\text{Ru}$ [$\text{M} - 2\text{Cl} - \text{H}$] $^+$ berechnet: 479.0572, gefunden: 479.0574.

Rutheniumkomplex **202**

Der Ligand **160** (10.0 mg, 38.6 μmol) wurde in Chloroform (3.0 mL) gelöst, mit $[\text{Ru}(\text{COD})(\text{MeCN})_2\text{Cl}_2]^{[137]}$ (15.0 mg, 41.3 μmol) und Kaliumcarbonat (5.7 mg, 41.3 μmol) versetzt. Die gelbe Lösung wurde 3 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 10:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **202** wurde als gelber Feststoff erhalten (6.3 mg, 12.5 μmol , 30%). Der Koordinationsmodus wurde anhand der charakteristischen Verschiebungen der olefinischen COD-Protonen bestimmt.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 7.29 – 7.39 (m, 4H, H-2, H-5, H-6, H-8), 7.11 (dt, J = 6.9, 1.7 Hz, 1H, H-4), 5.47 (s, 2H, H-7), 4.89 (s, 2H, H_{COD}), 4.55 (s, 2H, H_{COD}), 4.27 (t, J = 6.2 Hz, 2H, H-10), 3.82 (t, J = 6.2 Hz, 2H, NH_2), 2.61 (d, J = 7.7 Hz, 4H, H_{COD}), 2.13 (d, J = 9.4 Hz, 4H, H_{COD}). **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3): δ = 149.0, 135.4, 130.9, 120.7, 128.7, 126.7, 119.9, 90.9 (C_{COD}), 87.7 (C_{COD}), 54.9 (C-7), 40.0 (C-10), 29.8 (C_{COD}), 29.7 (C_{COD}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3222, 3130, 2922, 2856, 1662, 1577, 1432, 1381, 1336, 1299, 1252, 1205, 1140, 1081, 1033, 987, 932, 867, 804, 774, 733, 683, 656, 428. **HRMS** (ESI): $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{RuNa}$ [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ berechnet: 526.9909, gefunden: 526.9995.

Rutheniumkomplex **204**

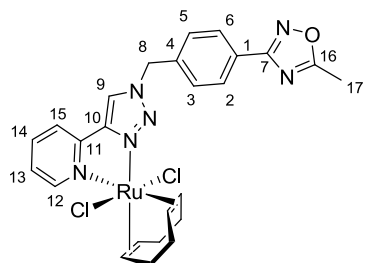
Der Ligand **158** (10.0 mg, 32.2 μmol) wurde in Chloroform (3.0 mL) gelöst und mit $[\text{Ru}(\text{COD})(\text{MeCN})_2\text{Cl}_2]^{[137]}$ (10.0 mg, 27.6 μmol) versetzt. Die gelbe Lösung wurde 3 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt

(Dichlormethan/Methanol 35:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **204** wurde als gelber Feststoff erhalten (14.6 mg, 23.8 μmol , 74%). Der Koordinationsmodus wurde anhand der charakteristischen Verschiebungen der olefinischen COD-Protonen bestimmt.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 8.23 (s, 1H, H-10), 8.14 (d, J = 5.3 Hz, 1H, H-13), 7.96 (d, J = 1.1 Hz, 1H, H-4), 7.82 (td, J = 7.5, 1.1 Hz, 1H, H-2), 7.72 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-1), 7.64 (dd, J = 8.5, 1.6 Hz, 1H, H-15), 7.59 (dd, J = 8.5 Hz, 1H, H-16), 7.37 (ddd, J = 8.0, 5.5, 1.3 Hz, 1H, H-14), 7.00 (s, 1H, H-6), 5.76 (s, 2H, H-9), 4.98 (s, 2H, H_{COD}), 4.76 (s, 2H, H_{COD}), 2.72 (d, J = 8.8 Hz, 4H, H_{COD}), 2.21 (d, J = 8.8 Hz, 4H, H_{COD}). **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3): δ = 157.0, 150.5, 150.4, 150.3, 148.8, 138.1, 129.5, 128.2, 127.0, 125.3, 123.1, 122.1, 119.0, 113.1, 108.3, 108.0, 92.2, 89.5, 48.5, 29.7, 29.5. **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3033, 2924,

2855, 2361, 2228, 1978, 1711, 1645, 1582, 1445, 1360, 1269, 1201, 1159, 1120, 845, 779, 558, 518, 486, 425.

Rutheniumkomplex **205**

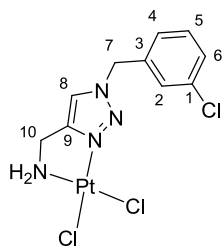


Der Ligand **162** (20.0 mg, 59.5 μmol) wurde in Chloroform (4.0 mL) gelöst und mit $[\text{Ru}(\text{COD})(\text{MeCN})_2\text{Cl}_2]$ ^[137] (21.5 mg, 59.5 μmol) versetzt. Die gelbe Lösung wurde 2 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt, auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 20:1) und die vereinigten

Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **205** wurde als gelber Feststoff erhalten (25.1 mg, 40.8 μmol , 69%). Der Koordinationsmodus wurde anhand der charakteristischen Verschiebungen der olefinischen COD-Protonen bestimmt.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 8.26 (s, 1H, H-9), 8.06 (d, J = 5.0 Hz, 1H, H-12), 8.01 (d, J = 8.2 Hz, 2H, H-2, H-6), 7.71 – 7.82 (m, 2H, H-13, H-14), 7.41 (d, J = 8.2 Hz, 2H, H-5, H-3), 7.27 – 7.32 (m, 1H, H-15), 5.61 (s, 2H, H-8), 4.93 (s, 2H, H_{COD}), 4.69 (s, 2H, H_{COD}), 2.60 – 2.63 (m, 7H, H_{COD} , H-17), 2.15 (d, J = 8.2, 4H, H_{COD}). **^{13}C -NMR** (63 MHz, CDCl_3): δ = 177.1, 167.6, 150.4, 150.1, 148.4, 138.2, 135.9, 129.0, 128.2, 127.6, 125.0, 123.4, 122.0, 92.1, 89.6, 55.1, 29.5, 29.2, 12.2. **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3096, 2922, 2855, 1591, 1569, 1457, 1421, 1351, 1223, 1181, 1114, 1097, 1046, 1020, 909, 864, 806, 781, 734, 644, 514, 483, 443.

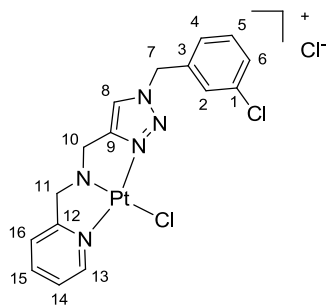
Platinkomplex **207**



Der Ligand (**160**) (10.7 mg, 41.3 μmol) wurde in Wasser (1.0 mL) suspendiert und mit Kaliumhydroxid-Lösung versetzt (1 mol/L, 41.3 μL). Zur Lösung wurde Kaliumtetrachloridoplatinat (18.6 mg, 44.9 μmol) gegeben und unter Lichtausschluss 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Der entstandene Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 $^{\circ}\text{C}$) und mit Wasser,

Methanol sowie Diethylether gewaschen. Der Rückstand wurde im Vakuum getrocknet und Platinkomplex **207** als gelblicher Feststoff erhalten (10.6 mg, 21.7 μmol , 53%).

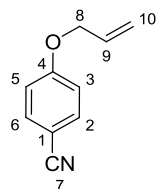
^1H -NMR (300 MHz, DMF-d_7): δ = 8.26 (s, 1H, H-8), 7.25 – 7.39 (m, 4H, H-2, H-4, H-5, H-6), 5.66 (s, 2H, H-7), 3.97 (s, 2H, H-10).

Platinkomplex **209**

$[\text{Pt}(\text{DMSO})_2\text{Cl}_2]^{[161]}$ (13.5 mg, 32.9 μmol) wurde in Methanol suspendiert und unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Nachdem sich der Feststoff gelöst hatte, wurde der Ligand **157** (10.0 mg, 32.9 μmol) zugegeben. Die Lösung wurde 30 min unter Rückfluss zum Sieden erhitzt und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt. Der entstandene Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser, Methanol und Diethylether

gewaschen. Der gelbe Feststoff wurde im Vakuum getrocknet und Platinkomplex **209** wurde als gelber Feststoff erhalten (10.8 mg, 18.6 μmol , 57%).

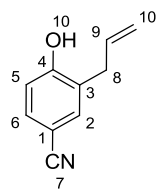
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 8.80 (dd, J = 4.9, 0.9 Hz, 1H, H-13), 8.55 (s, 1H, H-8), 8.24 (td, J = 7.7, 1.5 Hz, 1H, H-15), 7.78 (d, J = 7.7 Hz, 1H, H-5), 7.64 (ddd, J = 7.7, 5.6, 0.9 Hz, 1H, H-14), 7.51, (s, 1H, H-2), 7.47 – 7.49 (m, 2H, H-4, H-6), 7.35 – 7.39 (m, 1H, H-16), 5.79 (s, 2H, H-7), 4.91 (dd, J = 15.7, 9.3 Hz, 1H, H-11), 4.63 (dd, J = 14.6, 4.9 Hz, 1H, H-11), 4.58 (dd, J = 15.3, 8.5 Hz, 1H, H-10), 4.32 (dd, J = 15.1, 5.5 Hz, 1H, H-10). **HRMS** (ESI): $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{Pt}$ $[\text{M} - \text{Cl}]^+$ berechnet: 543.0426, gefunden: 543.0428.

4-(Allyloxy)-Benzonitril (**213**)

4-Chlorphenol (**212**) (5.0 g, 42.0 mmol) wurde in Acetonitril (40 mL) gelöst und mit Kaliumcarbonat (8.69 g, 63.0 mmol) versetzt. Die Lösung wurde auf 90 °C erwärmt und unter Rühren mit Allylbromid (4.4 mL, 50.4 mmol) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 1.5 h bei 90 °C gerührt und anschließend auf

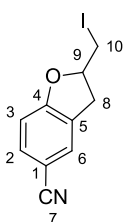
Raumtemperatur abgekühlt. Die Suspension wurde filtriert und das Filtrat im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Hexan/Ethylacetat 8:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. 4-(Allyloxy)-Benzonitril (**213**) wurde als farbloses Öl erhalten (6.14 g, 38.6 mmol, 92%).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 7.19 – 7.26 (m, 2H, H-2, H-6), 6.81 – 6.56 (m, 2H, H-3, H-5), 5.97 – 6.10 (m, 1H, H-9), 5.40 (d, J = 17.3 Hz, 1H, H-10), 5.29 (d, J = 10.5 Hz, 1H, H-10), 4.49 – 4.52 (m, 2H, H-8). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): δ = 157.3 (C-4), 133.1 (C-9), 129.4 (C-2, C-6), 125.9 (C-1), 118.0 (C-10), 116.8 (C-7), 116.2 (C-3, C-5), 69.2 (C-8). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3392, 3083, 2361, 2223, 1646, 1603, 1573, 1504, 1459, 1420, 1365, 1301, 1254, 1171, 993, 930, 833, 723, 620, 547.

3-Allyl-4-hydroxybenzonitril (**214**)

4-(Allyloxy)-Benzonitril (**213**) (6.14 g, 38.6 mmol) wurde im Mikrowellenreaktor 2 h auf 210 °C erwärmt (150 W). Es wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und säulenchromatographisch gereinigt (Hexan/Ethylacetat 8:1 → 1:1). 3-Allyl-4-hydroxybenzonitril (**234**) wurde als farbloses Öl erhalten (5.73 g, 36.0 mmol, 93%).

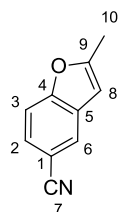
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.23 – 7.26 (m, 2H, H-2, H-6), 6.60 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H, H-10), 6.08 – 6.21 (m, 1H, H-9), 5.36 (dd, *J* = 2.7, 1.2 Hz, H-10), 5.31 (ddd, *J* = 9.2, 2.9, 1.5 Hz, H-10), 5.15 (br s, 1H, OH), 3.53 (dt, *J* = 6.4, 1.6 Hz, 2H, H-8).

2-(Iodmethyl)-2,3-dihydrobenzofuran-5-carbonitril **215**

3-Allyl-4-hydroxybenzonitril (**214**) (2.40 g, 18.8 mmol) wurde in Wasser (360 mL) suspendiert und mit Iod (5.26 g, 20.7 mmol) versetzt. Die Suspension wurde 16 h bei 50 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde abgekühlt, mit gesättigter Natriumthiosulfat-Lösung (25 mL) und mit Ethylacetat (50 mL) versetzt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat

(3x50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung (50 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Hexan/Ethylacetat 6:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. 5-Chlor-2-(iodmethyl)-2,3-dihydrobenzofuran (**215**) wurde als farbloses Öl erhalten (5.30 g, 18.6 mmol, 99%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.11 (s, 1H, H-6), 7.07 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, H-2), 6.69 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-3), 4.84 – 4.93 (m, 1H, H-9), 3.34 – 3.47 (m, 3H, H-8, H-10), 3.03 (dd, *J* = 16.4, 6.6 Hz, H-8). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 162.8 (C-4), 133.9 (C-2), 129.1 (C-3), 127.7 (C-5), 119.5 (C-7), 110.6 (C-6), 104.3 (C-1), 82.8 (C-9), 35.5 (C-8), 8.1 (C-10). FT-IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3012, 2953, 2216, 1608, 1482, 1437, 1416, 1327, 1304, 1284, 1234, 1183, 1127, 1105, 1074, 1009, 961, 924, 891, 855, 829, 786, 718, 658, 606, 582, 541, 487, 451, 419. HRMS (ESI): C₁₀H₉INO [M + H]⁺ berechnet: 285.9723, gefunden: 285.9725.

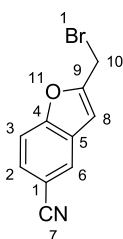
2-Methylbenzofuran-5-carbonitril (**216**)

5-Chlor-2-(iodmethyl)-2,3-dihydrobenzofuran (**215**) (5.36 g, 18.8 mmol) wurde in DMF (70 mL) gelöst und mit 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (2.8 mL, 18.8 mmol) versetzt. Die Lösung wurde 24 h bei 50 °C gerührt, anschließend abgekühlt und mit Wasser (30 mL) versetzt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3x30 mL) extrahiert. Die

vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung (30 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. 2-Methylbenzofuran-5-carbonitril (**216**) wurde als farbloses Öl erhalten (2.23 g, 14.7 mmol, 75%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.79 (s, 1H, H-6), 7.43 – 7.50 (m, 2H, H-2, H-3), 6.43 (s, 1H, H-8), 2.48 (s, 3H, H-10). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 158.3 (C-4), 156.6 (C-9), 130.0 (C-5), 127.1 (C-2), 125.1 (C-6), 119.8 (C-7), 111.8 (C-3), 106.4 (C-1), 102.5 (C-8), 14.2 (C-10). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 2923, 2219, 1643, 1606, 1489, 1465, 1441, 1379, 1300, 1265, 1198, 1155, 1113, 925, 884, 813, 741, 628, 602, 492, 425. **HRMS** (ESI): C₁₀H₇NONa [M + Na]⁺ berechnet: 180.0420, gefunden: 180.0421.

2-(Bromomethyl)benzofuran-5-carbonitril (**217**)

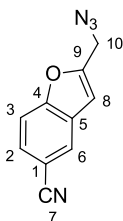


2-Methylbenzofuran-5-carbonitril (**216**) (1.51 g, 9.62 mmol) wurde in Chloroform (50 mL) gelöst, mit *N*-Bromsuccinimid (1.71 g, 9.62 mmol) und Dibenzoylperoxid (230 mg, 962 μ mol) versetzt. Die Lösung wurde 16 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in

Wasser aufgenommen und mit Dichlormethan (3x25 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Hexan/Ethylacetat 8:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. 2-Methylbenzofuran-5-carbonitril (**217**) wurde als beiger Feststoff erhalten (428 mg, 1.81 mmol, 19%).

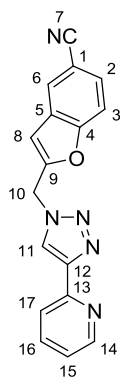
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.89 (dd, J = 1.4, 0.7 Hz, 1H, H-6), 7.60 (d, J = 8.5, 1.5 Hz, 1H, H-2), 7.56 (dt, J = 8.7, 0.9 Hz, 1H, H-3), 6.82 (d, J = 0.4 Hz, 1H, H-8), 4.58 (s, 2H, H-10). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 156.9 (C-4), 155.5 (C-9), 128.8 (C-5), 126.5 (C-2), 119.3 (C-7), 112.8 (C-6), 107.4 (C-1), 105.9 (C-8), 22.3 (C-10).

2-(Azidomethyl)benzofuran-5-carbonitril (**218**)



2-Methylbenzofuran-5-carbonitril (**217**) (428 mg, 1.81 mmol) wurde in DMF (10 mL) gelöst und mit Natriumazid (130 mg, 1.81 mmol) versetzt. Die Lösung wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden Salzsäure (6 mol/L, 1.0 mL) sowie Wasser (5.0 mL) hinzugegeben und mit Ethylacetat (3x15 mL) extrahiert.

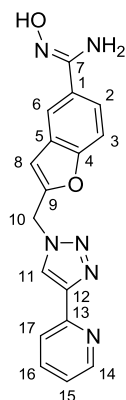
Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum getrocknet. 2-(Azidomethyl)benzofuran-5-carbonitril (**218**) wurde als farbloses Öl erhalten und ohne Reinigung für weitere Reaktionen verwendet.

2-((4-(Pyridin-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)benzofuran-5-carbonitril (**219**)

2-(Azidomethyl)benzofuran-5-carbonitril (**218**) (300 mg, 1.51 mmol) wurde in einem Gemisch aus *tert*-Butanol und Wasser (1:1, 12.0 mL) gelöst und mit 2-Ethynylpyridin (127 μ L, 1.21 mmol) versetzt. In Die Lösung wurde 15 min mit Stickstoff gespült und es wurde Kupfersulfat (12.0 mg, 75.5 μ mol) sowie Natrium-L-(+)-ascorbat (29.9 mg, 151 μ mol) zugegeben. Die Suspension wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt und es wurden Wasser (10 mL) sowie Ammoniumhydroxid-Lösung gegeben (konz., 0.5 mL) gegeben. Der entstandene Feststoff wurde mit Dichlormethan (3x20 mL) extrahiert, die vereinigten

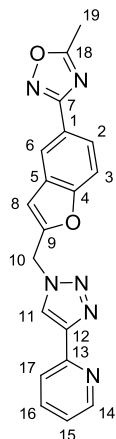
organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und aufkonzentriert. Die Suspension wurde filtriert und der Rückstand im Vakuum getrocknet. 2-((4-(Pyridin-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)benzofuran-5-carbonitril (**219**) wurde als weißer Feststoff erhalten (240 mg, 797 μ mol, 63%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.45 (d, J = 4.0 Hz, 1H, H-14), 8.30 (s, 1H, H-11), 8.06 (d, J = 7.7, 5.3 Hz, 1H, H-15), 7.84 (s, 1H, H-6), 7.73 (t, J = 7.7 Hz, 1H, H-16), 7.41 – 7.54 (m, 2H, H-2, H-3), 7.18 – 7.22 (dd, J = 7.9, 1H, H-17), 6.87 (s, 1H, H-8), 5.73 (s, 2H, H-10). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): 156.8 (C-4), 152.4 (C-9), 149.4, 149.0, 148.2, 137.6, 128.8, 128.4, 126.6, 123.3, 122.7, 120.6, 119.0 (C-7), 112.7, 107.1 (C-1), 106.7 (C-8), 47.0 (C-10).

(Z)-*N'*-Hydroxy-2-((4-(pyridin-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)benzofuran-5-carboximidamid (**221**)

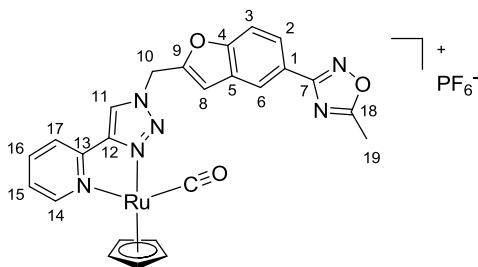
4-((4-(pyridin-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)benzonitril (**219**) (113 mg, 377 μ mol) wurde in Methanol (absolutiert, 10.0 mL) gelöst und Hydroxylamin-Hydrochlorid (131 mg, 1.88 mmol) wurde hinzugegeben. Die Lösung wurde bei Raumtemperatur 15 min gerührt und anschließend mit *N,N*-Diisopropylethylamin (310 μ L, 1.88 mmol) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 16 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt, anschließend wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 10:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum

getrocknet. (Z)-*N'*-Hydroxy-2-((4-(pyridin-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)benzofuran-5-carboximidamid (**221**) wurde als weißer Feststoff erhalten und direkt für weitere Reaktionen verwendet.

(Z)-N'-Acetoxy-2-((4-(pyridin-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)benzofuran-5-carboximidamid (222)

(Z)-N'-Hydroxy-2-((4-(pyridin-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)benzofuran-5-carboximidamid (**221**) (123 mg, 368 μmol) wurde in 1,4-Dioxan (10.0 mL) gelöst und mit Essigsäureanhydrid (52.0 μL , 565 μmol) versetzt. Die Lösung wurde 16 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt, anschließend wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 15:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. (Z)-N'-Acetoxy-2-((4-(Pyridin-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)benzofuran-5-carboximidamid (**222**) wurde als weißer Feststoff erhalten (79.9 mg, 197 μmol , 52%).

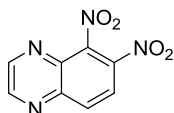
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 8.09 (ddd, J = 5.0, 1.2, 0.6 Hz, 1H, H-14), 8.05 (s, 1H, H-11), 7.83 (d, J = 1.7 Hz, 1H, H-6), 7.65 (dt, J = 7.9, 1.1 Hz, H-3), 7.55 (dd, J = 8.7, 1.7 Hz, 1H, H-16) 7.43 (td, J = 7.8, 1.8 Hz, 1H, H-2), 7.12 (d, J = 8.7 Hz, 1H, H-17), 6.89 (ddd, J = 7.6, 5.0, 1.1 Hz, 1H, H-15), 6.60 (s, 1H, H-8), 5.44 (s, 2H, H-10), 2.21 (s, 3H, H-19). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 176.6 (C-18), 168.3 (C-7), 156.7, 151.0, 137.2, 128.8, 128.1, 126.6, 124.6, 123.1, 122.4, 122.2, 121.1, 120.4, 112.0, 47.2 (C-10), 12.3 (C-19).

Rutheniumkomplex 223

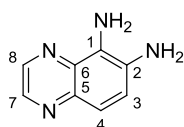
Der Ligand **222** (20.0 mg, 49.2 μmol) wurde in einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol (1:1, 4.0 mL) gelöst und mit $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6^{[125]}$ (22.8 mg, 54.1 μmol) versetzt. Die gelbe Lösung wurde 16 h bei 40 °C gerührt und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt

und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Acetonitril/Wasser/ges. Kaliumnitrat-Lösung. 50:3:1). Die vereinigten Produktfraktionen wurden im Vakuum getrocknet und der Rückstand in möglichst wenig Wasser aufgenommen. Der Komplex wurde durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C), mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **223** wurde als gelber Feststoff erhalten (34.4 mg, 48.1 μmol , 98%).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{MeCN-}d_3$): δ = 9.34 (ddd, J = 5.8, 1.3, 0.9 Hz, 1H, H-14), 8.71 (s, 1H, H-11), 8.39 (dd, J = 1.1, 0.6 Hz, 1H, H-6), 8.10 (dd, J = 7.7, 1.5 Hz, 1H, H-16), 8.06 (dd, J = 8.7, 1.7 Hz, H-2), 7.95 (ddd, J = 7.4, 1.5, 0.7 Hz, 1H, H-17), 7.64 (dt, J = 8.7, 0.8 Hz, 1H, H-3), 7.57 (ddd, J = 7.5, 5.8, 1.5 Hz, 1H, H-15), 7.24 (d, J = 0.8 Hz, 1H, H-8), 5.99 (s, 7H, H-10, C_5H_5), 2.62 (s, 3H, H-19).

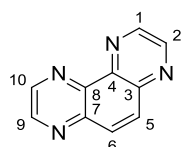
5,6-Dinitrochinoxalin (**230**)

In ein auf 0 °C abgekühltes Gemisch aus Oleum (5.0 mL), Schwefelsäure (10.0 mL) und Salpetersäure (3.0 mL) wurde Chinoxalin (**229**) (1.10 g, 8.45 mmol) gegeben und 24 h bei 90 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, auf Eis gegossen und mit Diethylether extrahiert (3x30 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumchlorid-Lösung (gesättigt, 50 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 10:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. Es wurde ein Gemisch aus Mono- und Dinitrochinoxalin (**253**) erhalten. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Charakterisierung umgesetzt.

5,6-Diaminochinoxalin (**232**)

Das Gemisch aus Mono- und Dinitrochinoxalin wurde in Ethylacetat gelöst (100 mL) und mit Zinn(II)chlorid (2.30 g, 10.3 mmol) versetzt. Die Lösung wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde Natronlauge (5 mol/L, 20.0 mL) zugegeben und 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3x30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Dichlormethan/Methanol 100:1 → 35:1) und die vereinigten Produktfraktionen im Vakuum getrocknet. 5,6-Diaminochinoxalin (**232**) wurde als gelber Feststoff erhalten (185 mg, 1.15 mmol, 14% über zwei Stufen).

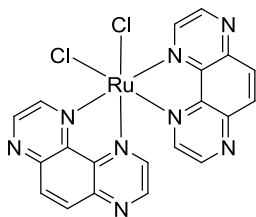
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 8.58 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-7/H-8), 8.50 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-7/H-8), 7.26 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, H-3), 7.19 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-4), 5.27 (br s, 2H, NH₂), 5.15 (br s, 2H, NH₂). **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 141.8 (C-7/C-8), 140.0 (C-7/C-8), 136.9 (C-6), 133.0 (C-1), 132.4 (C-5), 126.0 (C-2), 121.8 (C-3), 116.3 (C-4). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3383, 3340, 3216, 1648, 1611, 1572, 1503, 1480, 1419, 1365, 1317, 1269, 1231, 1164, 1121, 1072, 1035, 906, 856, 820, 778, 673, 532, 482, 437, 395.

1,4,5,8-Tetraazaphenanthren (**228**)

5,6-Diaminochinoxalin (**232**) (170 mg, 1.06 mmol) wurde in Wasser (2.4 mL) suspendiert und mit wässriger Glyoxal-Lösung (40%, 153 μ L, 1.06 mmol) versetzt. Die Suspension wurde 1 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Es wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, mit Natronlauge (5 mol/L) bis zur basischen Reaktion versetzt und mit Dichlormethan (3x10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. 1,4,5,8-Tetraazaphenanthren (**228**) wurde als weißer Feststoff erhalten (182 mg, 1.00 mmol, 94%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 9.06 (d, J = 1.9 Hz, 2H, H-2, H-9), 8.99 (d, J = 1.9 Hz, 2H, H-1, H-10), 8.22 (s, 2H, H-5, H-6). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 146.4 (C-2, C-9), 145.1 (C-1, C-10), 144.2 (C-4, C-8), 140.1 (C-3, C-7), 131.8 (C-5, C-6). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3055, 3016, 1551, 1493, 1445, 1288, 1265, 1086, 1029, 884, 833, 748, 457, 433, 410, 397. **HRMS** (ESI): C₁₀H₆N₄Na [M + Na]⁺ berechnet: 205.0485, gefunden: 205.0487.

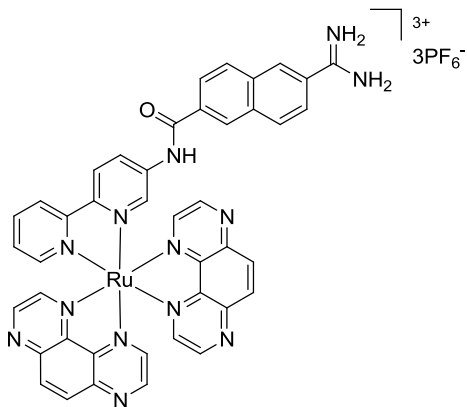
[RuCl₂(tap)₂] (**233**)



1,4,5,8-Tetraazaphenanthren (**228**) (150 mg, 813 μ mol) wurde in DMF (8.0 mL) gelöst und mit RuCl₃ · 3H₂O (105 mg, 406 μ mol), sowie Lithiumchlorid (119 mg, 2.84 mmol/L) versetzt. Die Suspension wurde 8 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Es wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit Wasser und Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet. [Ru(tap)₂Cl₂] (**233**) wurde als lila Feststoff in einer Ausbeute von 116 mg (216 μ mol, 43%) erhalten.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10.18 (d, J = 2.8 Hz, 2H), 9.48 (d, J = 2.8 Hz, 2H), 8.64 (d, J = 3.6 Hz, 2H), 8.62 (d, J = 2.6 Hz, 2H), 8.49 (d, J = 9.3 Hz, 2H), 8.33 (d, J = 2.9 Hz, 2H). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 2362, 2336, 1385, 840, 730, 670, 562, 459, 431. **HRMS** (ESI): C₂₀H₁₂ClN₈RuNa [M + Na]⁺ berechnet: 558.9497, gefunden: 558.9509.

Rutheniumkomplex **234**



Der Ligand **47** (5.0 mg, 13.6 μ mol) wurde in einem Gemisch aus Wasser und Ethanol (1:1, 2.0 mL) gelöst und mit [Ru(tap)₂Cl₂] (**233**) (7.4 mg, 13.6 μ mol) versetzt. Die violette Suspension wurde 16 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und der Komplex durch Zugabe von Ammoniumhexafluorophosphat ausgefällt. Der Feststoff wurde über eine Sepak C18-Säule (500 mg, 6 mL, 3x5 mL H₂O → 3x5 mL Acetonitril) von den Salzen abgetrennt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in möglichst wenig Acetonitril gelöst und durch Zugabe von Diethylether ausgefällt. Der Feststoff wurde zentrifugiert (4000 rpm, 4 °C) und im Vakuum getrocknet. Rutheniumkomplex **234** wurde als roter Feststoff in einer Ausbeute von 6.9 mg (5.44 μ mol, 40%) erhalten.

¹H-NMR (300 MHz, MeCN-*d*₃): δ = 9.32 (br s, 1H), 9.14 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 9.12 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 8.95 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 8.92 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 8.55 – 8.66 (m, 6H), 8.46 – 8.52 (m, 3H), 8.40 (d, J = 1.5 Hz,

1H), 8.32 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 8.08 – 8.20 (m, 6H), 7.86 – 7.90 (m, 4H), 7.78 (dd, $J = 8.6, 1.7$ Hz, 1H), 7.74 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 7.33 (ddd, $J = 7.7, 5.9, 1.1$ Hz, 1H). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 2299, 2854, 1537, 1469, 1353, 1270, 1184, 1101, 826, 734, 649, 554, 471$.

Bestimmung der IC₅₀-Werte

Die IC₅₀-Werte der Serinproteasen Thrombin (Sigma-Aldrich), Trypsin (Sigma-Aldrich) und Urokinase (Assay Kit, Pentapharm) wurden durch Absorptionsmessungen bei 405 nm in einem 96-well-plate mit einem Spectramax M5 Plate-Reader der Firma Molecular Devices bestimmt. Als Substrat für Trypsin wurde *N*_α-Bz-L-Arg-pNA · HCl (Bachem), für Thrombin *N*_α-Bz-Phe-Val-Arg-pNA · HCl (Bachem) und für Urokinase ein Substrat der Sequenz *N*_α-Bz-Ala-Gly-Arg-pNA · AcOH (Pentapharm) verwendet. Vor der Durchführung des jeweiligen Assays wurde eine Reaktionslösung der Serinprotease und des Inhibitors in Wasser hergestellt.

Die Thrombin-Reaktionslösung wurde hergestellt, indem Thrombin-Stammlösung (pH 8.0, 10 mmol/L Tris-HCl, 1.0 mmol/L EDTA, 5 µmol/L, 6.0 µL) mit Wasser (1194 µL) verdünnt wurde. Diese Lösung wurde mit Tris-HCl/CaCl₂ Puffer versetzt (pH 8.2, Tris-HCl Konzentration = 250 mmol/L, CaCl₂ Konzentration = 100 mmol/L, 400 µL). Zehn Aliquote der Lösung (je 160 µL) wurden in einem 96-well-plate mit Inhibitorlösung (20 µL) verschiedener Konzentration versetzt (10 nmol/L - 1 mmol/L, verdünnt mit 10% DMSO in Wasser). Nach 15 min Inkubationszeit wurde Substrat hinzugegeben (20 µL, 117 µmol/L) und möglichst schnell eine Hintergrundmessung durchgeführt. Im Abstand von jeweils 30 Sekunden wurden weitere Messpunkte ermittelt. Nach Abzug der Hintergrundmessung konnten die Datenpunkte logarithmisch gegen die Konzentration aufgetragen und durch Normierung auf den Messwert der Blindprobe konnte der IC₅₀-Wert bestimmt werden. Dieser gibt die Inhibitorkonzentration an, bei welcher das Enzym eine Restaktivität von 50% besitzt.

Die Trypsin-Reaktionslösung wurde hergestellt, indem Trypsin-Stammlösung (pH 3, 1.0 mmol/L HCl, 4.35 µmol/L, 50 µL) mit Wasser (1330 µL) verdünnt wurde. Diese Lösung wurde mit Tris-HCl/CaCl₂ Puffer versetzt (pH 8.2, Tris-HCl Konzentration = 250 mmol/L, CaCl₂ Konzentration = 100 mmol/L, 400 µL). Zehn Aliquote der Lösung (je 178 µL) wurden in einem 96-well-plate mit Inhibitorlösung (20 µL) verschiedener Konzentration versetzt (10 nmol/L - 1 mmol/L, verdünnt mit 10% DMSO in Wasser). Nach 15 min Inkubationszeit wurde Substrat hinzugegeben (2 µL, 46 µmol/L) und möglichst schnell eine Hintergrundmessung durchgeführt. Im Abstand von jeweils 10 Minuten wurden weitere Messpunkte ermittelt. Nach Abzug der Hintergrundmessung konnten die Datenpunkte logarithmisch gegen die Konzentration aufgetragen und durch Normierung auf den Messwert der Blindprobe konnte der IC₅₀-Wert bestimmt werden.

Die Urokinase-Reaktionslösung wurde hergestellt, indem Urokinase-Stammlösung (pH 5.0, 0.1 mol/L Natriumacetat, 0.1 mol/L NaCl, 1.0 mmol/L EDTA, 4.35 µmol/L, 10.0 µL) mit Wasser (1190 µL) verdünnt wurde. Diese Lösung wurde mit Tris-HCl/NaCl Puffer versetzt (pH 7.4; 40 µL Tris-HCl Konzentration = 250 mM, NaCl Konzentration = 750 mM; 0.25% V/V Tween® 20, 400 µL). Zehn Aliquote der Lösung (je 160 µL) wurden in einem 96-well-plate mit Inhibitorlösung (20 µL) verschiedener Konzentration versetzt (10 nmol/L - 1 mmol/L, verdünnt mit 10% DMSO in Wasser).

Nach 15 min Inkubationszeit wurde Substrat hinzugegeben (20 μL , 100 $\mu\text{mol/L}$) und möglichst schnell eine Hintergrundmessung durchgeführt. Im Abstand von jeweils 10 Minuten wurden weitere Messpunkte ermittelt. Nach Abzug der Hintergrundmessung konnten die Datenpunkte logarithmisch gegen die Konzentration aufgetragen und durch Normierung auf den Messwert der Blindprobe konnte der IC_{50} -Wert bestimmt werden.

Die Bestimmung der prozentualen Inhibition in Form von Einzelpunktmessungen wurde analog der IC_{50} -Bestimmung durchgeführt. Die Enzymaktivität nach Inhibitorzugabe wurde auf die Blindprobe normiert und die prozentuale Inhibition wurde direkt abgelesen.

Chromophor-unterstützte Photodeaktivierung

Die Photodeaktivierung von Trypsin wurde unter Verwendung einer Newport Hg/Xe Kohlebogenlampe mit einem Newport Filter ($\lambda \geq 400 \text{ nm}$) durchgeführt.

Die Trypsin-Reaktionslösung wurde hergestellt indem Trypsin-Lösung (pH 3, 1.0 mmol/L HCl, 4.35 $\mu\text{mol/L}$, 50 μL) mit Wasser (1130 μL) verdünnt wurde. Diese Lösung wurde mit Tris-HCl/ CaCl_2 Puffer versetzt (pH 8.2, Tris-HCl Konzentration = 250 mmol/L, CaCl_2 Konzentration = 100 mmol/L, 400 μL). Zur Verringerung des Diffusionsradius vom Singulett Sauerstoff wurde Natriumazid-Lösung (1.00 mol/L, 200 μL) hinzugegeben. Neun Aliquote der Lösung (je 178 μL) wurden in einem 96-well-plate mit Inhibitorlösung (20 μL) verschiedener Konzentration (10 nmol/L - 1 mmol/L, verdünnt mit 10% DMSO in Wasser) sowie eine Lösung ohne Inhibitor (10% DMSO in Wasser) als Blindprobe versetzt. Nach 15 min Inkubationszeit wurde mit angegebener Zeit belichtet und anschließend das Substrat hinzugegeben (2 μL , 46 $\mu\text{mol/L}$) sowie möglichst schnell eine Hintergrundmessung durchgeführt. Im Abstand von jeweils 10 Minuten wurden weitere Messpunkte ermittelt. Nach Abzug der Hintergrundmessung konnten die Datenpunkte logarithmisch gegen die Konzentration aufgetragen und durch Normierung auf den Messwert der Blindprobe konnte der IC_{50} -Wert bestimmt werden.

Kapitel 6

Literatur

- [1] J. C. Dabrowiak, *Metals in Medicine*, 1st Ed., John Wiley & Sons, **2009**.
- [2] J. R. Dilworth, S. J. Parrott, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, 27, 43-55.
- [3] R. Schibli, P. August Schubiger, *Eur. J. Nucl. Med.* **2002**, 29, 1529–1542.
- [4] T. C. Pinkerton, C. P. Desilets, D. J. Hoch, *J. Chem. Ed.* **1985**, 62, 965-973.
- [5] D. Vanderhingste, M. V. Eeckhoudt, C. Terwinghe, L. Mortelmans, G. M. Bormans, A. M. Verbruggen, H. P. Vanbilloen, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2003**, 32, 679-685.
- [6] R. D. Nerinckx, L. R. Canning, I. M. Piper, D. P. Nowotnik, R. D. Pickett, R. A. Holmes, W. A. Volkert, A. M. Forster, P. S. Weisner, J. A. Marriou, S. B. Chaplin, *J. Nucl. Med.* **1987**, 28, 191-202.
- [7] H. Y. Ding, Y. F. Huang, C. C. Tzeng, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 3199-3202.
- [8] G. Klebe, *Wirkstoffdesign*; Spektrum Akademischer Verlag, 2009.
- [9] M. L. Bowen, C. Orvig, *Chem. Comm.* **2008**, 5077-5091.
- [10] S. Jurisson, J. D. Lydon, *Chem. Rev.* **1999**, 99, 2235-2268.
- [11] J. E. Cyr, D. A. Pearson, C. A. Nelson, B. A. Lyons, Y. Zheng, J. Bartis, J. He, M. V. Cantorias, R. C. Howell, L. C. Francesconi, *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 4295-4303.
- [12] J.-C. G. Bünzli, C. Piguet, *Chem. Soc. Rev.* **2005**, 34, 1048-1077.
- [13] S. P. Fricker, *Chem Soc. Rev.* **2006**, 35, 524-533.
- [14] T. Storr, K. H. Thompson, C. Orvig, *Chem. Soc. Rev.* **2006**, 35, 534-544.
- [15] M. Bottrill, L. Kwok, N. J. Long, *Chem. Soc. Rev.* **2006**, 35, 557-571.
- [16] C. Li, M. Yu, Y. Sun, Y. Wu, C. Huang, F. Li, *J. Am. Chem Soc.* **2011**, 133, 11231-11239.
- [17] M. Partra, G. Gasser, *Chem. Bio. Chem.* **2012**, 13, 1232-1252.
- [18] K. A. Stephenson, S. R. Banerjee, T. Besanger, O. O. Sogebin, M. K. Levandala, J. W. Babich, J. Zubieta, J. F. Vaillant, *J. Am. Chem Soc.* **2004**, 126, 8598-8599.
- [19] D. Wang, S. J. Lippard, *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2005**, 4, 307-320.
- [20] A. V. Klein, T. W. Hambley, *Chem. Rev.* **2009**, 109, 4911–4920.
- [21] D. Gibson, *Dalton Trans.* **2009**, 10681-10689.

- [22] F. P. Dwyer, E. C. Gyarfas, W. P. Rogers, J. H. Koch, *Nature* **1952**, 170, 190–191.
- [23] F. P. Dwyer, R. D. Wright, E. C. Gyarfas, A. Shulman, *Nature* **1957**, 179, 425–426.
- [24] F. P. Dwyer, I. K. Reid, A. Shulman, G. M. Laycock, S. Dixon, *Austr. J. Exp. Biol. Med.Sci* **1969**, 47, 2.
- [25] N. L. Kilah, E. Meggers, *Aust. J. Chem.* **2012**, 65, 1325-1332.
- [26] E. Meggers, *Chem. Comm.* **2009**, 1001-1010.
- [27] L. Feng, Y. Geisselbrecht, S. Blanck, A. Wilbuer, G. E. Attila-Gokcumen, P. Filippakopoulos, K. Kräling, M. A. Celik, K. Harms, J. Maksimoska, R. Marmorstein, G. Frenking, S. Knapp, L.-O. Essen, E. Meggers, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 5076-5986.
- [28] J. Maksimoska, L. Feng, K. Harms, C. Yi, J. Kissil, R. Marmorstein, E. Meggers, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 15764-15765.
- [29] E. Fischer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1894**, 27, 2985–2993.
- [30] S. Blanck, J. Maksimoska, J. Baumeister, K. Harms, R. Marmorstein, E. Meggers, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 5244-5246.
- [31] S. Blanck, Y. Geisselbrecht, K. Kräling, S. Middel, T. Mietke, K. Harms, L.-O. Essen, E. Meggers, *Dalton Trans.* **2012**, 4, 9337-9348.
- [32] S. Blanck, T. Cruchter, A. Vultur, R. Riedel, K. Harms, M. Herlyn, E. Meggers, *Organometallics* **2011**, 30, 4598-4606.
- [33] D. Crespy, K. Landfester, U. S. Schubert, A. Schiller, *Chem. Commun.* **2010**, 46, 6651-6662.
- [34] S. Beck, T. Sakurai, B. K. Eustace, G. Beste, R. Schier, F. Rudert, D. G. Jay, *Proteomics* **2002**, 2, 247-255.
- [35] M. E. Bulina, K. A. Lukyanov, O.V. Britanova, D. Onichtchouk, S. Lujyanov, D. M. Chudakov, *Nat. Protoc.* **2006**, 1, 947-953.
- [36] T. Yogo, Y. Urano, A. Mizushima, H. Sunahara, T. Inoue, K. Hirose, M. Iino, T. Nagano, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, 105,28-32.
- [37] O. Tour, R. M. Meijer, D. A. Zacharias, S. R. Adams, R. Y. Tsien, *Nat. Biotech.* **2003**, 21, 1505-1508.
- [38] M. Gracanin, C. L. Hawkins, D. J. Pattison, M. J. Davies, *Free Radical Biology and Medicine* **2009**, 47, 92-102.
- [39] H. Sies, *Angew. Chem.* **1986**, 98, 1061-1075.
- [40] M. J. Davies, *Biophys. Res. Comm.* **2003**, 305, 761-770.
- [41] E. G. Prestwich, M. D. Roy, J. Rego, S. O. Kelley, *Chem. Biol.* **2005**, 12, 695-701.
- [42] I. Kraljic, S. El Mohsni, *Photochem. and Photobio.* **1978**, 28, 577-581.
- [43] J. Muff, L. R. Bennedsen, E. G. Sogaard, *J. Appl. Electrochem.* **2011**, 41, 599-607.

- [44] I. Kraljic, C. N. Trumbore, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 2547-2550.
- [45] C. Guilivi, N. J. Traaseth, K. J. A. Davies, *Amino Acids* **2003**, *25*, 277-232.
- [46] J. Lee, P. Yu, X. Xiao, T. Kodadek, *Mol. Biosyst.* **2008**, *4*, 59-65.
- [47] T. Hayashi, M. Tajika, K. Tamao, M. Kumada, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 3719-3721.
- [48] X. Zhang, M. A. J. Rodgers, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 12797-12803.
- [49] C. Tanielian, C. Wolff, M. Esch, *J. Phys. Chem* **1996**, *100*, 6555-6560.
- [50] A. A. Abdel-Shafi, J. L. Bourdelande, S. S. Ali, *Dalton Trans.* **2007**, 2510-2516.
- [51] N. J. Farrer, L. Salassa, P. J. Sadler, *Dalton Trans.* **2009**, 10690-10701.
- [52] K. Szacilowski, W. Macyk, A. Drzewuecka-Matusek, M. Brindell, G. Sochel, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2647-2694.
- [53] J. Lee, D. G. Udugamasooriya, H.-S. Lim, T. Kodadek, *Nat. Chem. Biol.* **2010**, *6*, 258-260.
- [54] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer *Biochemie*; Elsevier, **2007**.
- [55] L. Hedstrom, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 4501-4523.
- [56] R. E. Babine, S. L. Bender, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1359-1472.
- [57] N. D. Rawlings, A. J. Barnett, *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, 323-325.
[http://merops.sanger.ac.uk/cgi-bin/clan_index?type=P]
- [58] I. Schechter, A. Berger, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1967**, *27*, 157-162.
- [59] J. J. Perona, C. S. Craik, *Protein Sci.* **1995**, *4*, 337-360.
- [60] J. J. Perona, L. Hedstrom, W. J. Rutter, R. J. Fletterick, *Biochemistry* **1995**, *34*, 1489-1499.
- [61] H. Czapinska, J. Otlewski, *Eur. J. Biochem.* **1999**, *260*, 571-595.
- [62] R. Henderson, *J. Mol. Biol.* **1970**, *46*, 197-208.
- [63] D. R. Corey, C. S. Craik, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1784-1790.
- [64] P. Carter, J. A. Wells, *Nature* **1988**, *332*, 564-568.
- [65] J. Fastrez, A. R. Fersht, *Biochemistry* **1973**, *12*, 2025-2034
- [66] C. Gerlach, M. Münzel, M. B. Baum, H.-D. Gerber, T. Craan, W. E. Diederich, G. Klebe, G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 9105-9109.
- [67] M. Zürcher, F. Diederich, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4345-4361
- [68] C. De Haen, H. Neurath, D. C. Teller, *J. Mol. Biol.* **1975**, *56*, 225-259.
- [69] E. Schweizer, A. Hoffmann-Röder, J. A. Olsen, P. Seiler, U. Obst-Sander, B. Wagner, M. Kansy, D. W. Banner, F. Diederich, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 2364-2375.
- [70] U. Obst, V. Gramlich, F. Diederich, L. Weber, D. W. Banner *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 1739-1742.
- [71] U. Obst, D. W. Banner, L. Weber, F. Diederich, *Chem. Biol.* **1997**, *4*, 287-295.
- [72] U. Obst, P. Betschmann, C. Lerner, P. Seiler, F. Diederich, V. Gramlich, L. Weber, D. W. Banner, P. Schönholzer, *Helv. Chim. Acta.* **2000**, *83*, 855-909.

- [73] J. Fokkens, G. Klebe, *Angew. Chem, Int. Ed.* **2006**, 46, 985-989.
- [74] E. W. Davie, K. Fujikawa, W. Kisiel, *Biochemistry* **1991**, 30, 10363-10370.
- [75] B. Furie, B. Furie, *N. Engl. J. Med.* **1992**, 326, 800-806.
- [76] J. F. Bazan, *Nature* **1996**, 380, 21-22.
- [77] S. R. Coughlin, *Nature* **2000**, 407, 258-264.
- [78] S. R. Coughlin, *in vivo. Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol.* **1998**, 18, 514–518.
- [79] D. J. Pinto, J. M. Smallheer, D. L. Cheney, R. M. Knabb, R. R. Wexler, *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 6243-6274.
- [80] K. Schärer, M. Morgenthaler, R. Pauline, U. Obst-Sandner, D. W. Banner, D. Schlatter, J. Benz, M. Stihle, F. Diederich, *Angew. Chem.* **2005**, 117, 4474-4479.
- [81] A. D. Fenza, A. Heine, U. Koert, G. Klebe, *ChemMedChem* **2007**, 2, 297-308.
- [82] F. H. Epstein, *New Eng. J. Med.* **1999**, 341, 738-746.
- [83] F. Frankenne, A. Noel, K. Bajou, N. E. Sounni, F. Goffin, V. Masson, C. Munaut, A. Memacle, J. M. Foidart, *Emerg. Ther. Targets* **1999**, 3, 469-481.
- [84] M. Lee, R. Fridman, S. Mobashery, *Chem. Soc. Rev.* **2004**, 33, 401-409.
- [85] M. D. Wendt, A. Geyer, W. McClellan, T. W. Todd, M. Weitzberg, X. Zhao, R. Mantei, K. Stewart, V. Nienaber, V. Klinghofer, V. L. Giranda, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 3063-3068.
- [86] M. D. Wendt, T. W. Todd, A. Geyer, W. McClellan, M. Weitzberg, X. Zhao, R. Mantei, V. L. Nienaber, K. Stewart, V. Klinghofer, V. L. Giranda, *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 303-324.
- [87] A. Straub, S. Roehrig, A. Hillisch, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 4574-4590.
- [88] L. A. Sorbera, M. Bayes, J. Castaner, J. Silvestrem *Drugs Future* **2001**, 101, 1155 -1170.
- [89] D. Gustafsson, J.-E. Nystrom, S. Carlsson, U. Bredberg, U. Eriksson, E. Gyzander, M. Elg, T. Antonsson, K.-J. Hoffmann, A.-L. Ungell, H. Sorensen, S. Nagard, A. Abrahamsson, R. Bylund, *Thromb. Res.* **2001**, 101, 171-181.
- [90] T. C. Sarich, U. G. Eriksson, C. Mattsson, M. Wolzt, L. Frison, G. Fager, D. Gustafsson, *Thromb. Haemostasis* **2002**, 87, 300-305.
- [91] R. Hopfner, *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2002**, 3, 246-251.
- [92] D. Blech, T. Ebner, E. Ludwig-Schwellinger, W. Roth, *Drug. Metab. Dispos.* **2008**, 36, 386-399.
- [93] D. Leung, G. Abbenante, D. P. Fairlie, *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 305-341.
- [94] E. Toyota, K. K. S. Ng, H. Sekizaki, K. Itoh, K. Tanizawa, M. N. G. James, *J. Mol. Biol.* **2001**, 305, 471-479.
- [95] E. Toyota, H. Sekizaki, Y. Takahasi, K. Itoh, K. Tanizawa, *Chem. Pharm. Bull* **2005**, 1, 22-26.
- [96] D. Iyaguchi, S. Kawano, K. Takada, *Bioorg. Med. Chem* **2010**, 18, 2076-2080.

- [97] B. A. Katz, J. M. Clark, J. S. Finer-Moore, T. E. Jenkins, C. R. Johnson, M. J. Ross, C. Luong, W. R. Moore, R. M. Stroud, *Nature* **1998**, 391, 608-612.
- [98] M. Bischof, Diplomarbeit, Philipps-Universität Marburg, **2009**.
- [99] A. Lützen, M. Hapke, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 2292-2297.
- [100] R. T. Boere, R. T. Oakley, R. W. Reed, *J. Org. metal. Chem.* **1987**, 331, 161-167.
- [101] R. A. Zelonka, M. C. Baird, *J. Orgmet. Chem.* **1972**, 44, 383-389.
- [102] H. Bregman, P. J. Carroll, E. Meggers, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 877-884.
- [103] P. J. Blower, S. R. Cooper, *Inorg. Chem.* **1987**, 26, 2010-2011.
- [104] E. Meggers, G. E. Atila-Gokcumen, H. Bregman, J. Maksimoska, S. P. Mulcahy, N. Pagano, D. S. Williams, *Synlett* **2007**, 8, 1177-1189.
- [105] C. Landgrafe, W. S. Sheldrick, *Dalton Trans.* **1994**, 1885-1893.
- [106] L. Feng, Dissertation, Philipps-Universität Marburg **2011**.
- [107] V. Marin, E. Holder, R. Hoogenboom, U. S. Schubert, *J. Polym. Sci., Part A Polym. Chem.* **2004**, 42, 4153-4160.
- [108] S. Kappaun, S. Sax, S. Eder, K. C. Möller, K. Waich, F. Niedermair, R. Saf, K. Mereiter, J. Jacob, K. Müllen, E. J. W. List, C. Slugovc, *Chem. Mater.* **2007**, 19, 1209-1211.
- [109] L. Gong, S. P. Mulcahy, K. Harms, E. Meggers, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 9602-9603.
- [110] L. Gong, S. P. Mulcahy, D. Devarajan, K. Harms, G. Frenking, E. Meggers, *Inorg. Chem.* **2010**, 49, 7692-7699.
- [111] L. Gong, Z. Lin, K. Harms, E. Meggers, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 7955-7957.
- [112] Z. Lin, L. Gong, M. A. Celik, K. Harms, G. Frenking, E. Meggers, *Chem. Asian J.* **2011**, 6, 474-481.
- [113] L. Gong, C. Müller, M. A. Celik, G. Frenking, E. Meggers, *New J. Chem.* **2011**, 35, 788-793.
- [114] Z. Lin, M. A. Celik, C. Fu, K. Harms, G. Frenking, E. Meggers, *Chem. Eur. J.* **2011**, 17, 12602-12605.
- [115] M. Wenzel, E. Meggers, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, 3168-3175.
- [116] C. Fu, M. Wenzel, E. Treutlein, K. Harms, E. Meggers, *Inorg. Chem.* **2012**, 51, 10004-10011.
- [117] M. Helms, Masterarbeit, Philipps-Universität Marburg, **2012**.
- [118] A. E. Friedman, J. C. Chambron, J. P. Sauvage, N. J. Turro, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 4960-4962.
- [119] Z.A. Alagöz, M. Alp, C. Kus, S. Yildiz, E. Buyukbingöl *Arch. Pharm. Chem. Life. Sci.* **2006**, 339, 74-80.
- [120] A. C. Cerdeira, D. Simao, I. C. Santos, A. Machado, L. C. J. Pereira, J. C. Waerenborgh, R. T. Henriques, M. Almeida, *Inorg. Chim. Acta* **2008**, 361, 3836-3841.
- [121] R. Roger, D. G. Neilson, *Chem. Rev.* **1961**, 61, 179-211.

- [122] S. Darnbrough, M. Mervic, S. M. Condon, C. J. Burns, *Syn. Comm.* **2001**, *21*, 3273-3280.
- [123] C. Wiles, P. Watts, S. J. Haswell, E. Pombo-Villar, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10757-10773.
- [124] S.-H. Ahn, H. N. Lim, K.-J. Lee, *J. Heterocyclic Chem.* **2008**, *45*, 1701-1705.
- [125] T. P. Gill, K. R. Mann, *Organometallics* **1982**, *1*, 485-488.
- [126] L. Golde, Bachelorarbeit, Philipps-Universität Marburg 2010.
- [127] E. Verner, B. A. Katz, J. R. Spencer, D. Allen, J. Hataye, W. Hruzewicz, H. C. Hui, A. Kolesnikov, Y. Li, C. Luong, A. Martelli, K. Radika, R. Rai, M. She, W. Shrader, P. A. Sprengeler, S. Trapp, J. Wang, W. B. Young, R. L. Mackman, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2753-2771.
- [128] I. J. McAlpine, J. G. Deal, M. C. Johnson, S. E. Kephart, J. Y. Park, W. H. Romines, J. G. Tikhe, *From U.S. Pat. Appl. Publ.* **2005**, 20050090529.
- [129] J. Lindley, *Tetrahedron* **1984**, *40*, 1433-1456.
- [130] J. D. Ager, R. A. Erickson, D. E. Froen, I. Prakash, *Org. Proc. Res. Dev.* **2004**, *8*, 62-71.
- [131] N. Zhou, L. Wang, D. W. Thompson, Y. Zhao, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3001-3004.
- [132] D. M. Tschaen, R. Desmond, A. O. King, M. C. Fortin, B. Pipik, S. King, T. R. Verhoeven, *Synth. Commun.* **1994**, *24*, 887-890.
- [133] F. Halley, X. Sava, *Synth. Commun.* **1997**, *27*, 1199-1207.
- [134] F. Crestey, V. Collot, S. Stiebing, S. Rault, *Synthesis* **2006**, *20*, 3506-3514.
- [135] In dem später gezeigten Triazolprojekt wurde ebenfalls versucht die PINNER-Reaktion durchzuführen. Auch hier wurde das Imidat aufgrund der geringen Reaktivität nicht gebildet und es konnte lediglich nicht umgesetztes Nitril zurückgewonnen werden.
- [136] B. D. Judkins, D. G. Allen, T. A. Cook, B. Evans, T. E. Sardharwalla, *Synth. Commun.* **1996**, *26*, 4351-4367.
- [137] K. Nadrah, M. S. Dolenc, *Synlett* **2007**, *8*, 1257-1258.
- [138] M. O. Albers, T. V. Ashworth, H. E. Oosthuizen, E. Singleton, J. S. Merola, R. T. Kacmarcik, *Inorg. Synth.* **2007**, *26*, 68-77.
- [139] B. Baum, M. Mohamed, M. Zayed, C. Gerlach, A. Heine, D. Hagenauer, G. Klebe, *J. Mol. Biol.* **2009**, *390*, 56-69.
- [140] B. Baum, L. Muley, M. Smolinski, A. Heine, D. Hagenauer, G. Klebe, *J. Mol. Biol.* **2010**, *397*, 1042-1054.
- [141] L. Muley, B. Baum, M. Smolinski, M. Freindorf, A. Heine, G. Klebe, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 2126-2135.
- [142] A. Adibekian, B. R. Martin, C. Wang, K.-L. Hsu, D. A. Bachovchin, S. Nissen, H. Hoover, B. F. Cravatt, *Nat. Chem. Biol.* **2011**, *7*, 469-479.
- [143] V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.

- [144] D. Liu, W. Gao, Q. Dai, X. Zhang, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4907-4910.
- [145] Q. Dai, W. Gao, D. Liu, L. M. Kapes, X. Zhang, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3928-3934.
- [146] H. C. Kolb, K. B. Sharpless, *Drug Discov. Today* **2003**, *8*, 1128-1137.
- [147] A. Aliabadi, F. Shamsa, S. N. Ostad, S. Emami, A. Shafiee, J. Davoodi, A. Foroumadi, *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 5384-5389.
- [148] M. Yodo, H. Harada, *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *9*, 2361-2368.
- [149] A. K. Yadav, B. K. Singh, N. Sing, R. P. Tripathi, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 6628-6632.
- [150] S. Vagveravong, M. Taylor, J. Xu, J. Cui, W. Calvin, S. Babic, R. R. Luedtke, R. H. Mach, *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 5291-5300.
- [151] G. A. Molander, F. Cadoret, *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 2199-2202.
- [152] S. Bernard, D. Defoy, K. Klarskov, *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *19*, 6127-6130.
- [153] V. Wolf, *Chem. Ber.* **1953**, *86*, 735-737.
- [154] D. Hermeling, H. J. Schaefer, *Chem. Ber.* **1988**, *121*, 1151-1158.
- [155] A. Medvedeva, M. Andreev, L. Safonova, G. Sarapulova, *Rus. J. Org. Chem.* **2010**, *46*, 1466-1470.
- [156] R. Hayashi, X. Jin, G. R. Cook, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 6864-6870.
- [157] H. Struthers, D. Viertl, M. Kosinski, B. Spingler, F. Buchegger, R. Schibli, *Bioconjugate Chem.* **2010**, *21*, 622-634.
- [158] K. Narasaka, Y. Hayashi, H. Shimadzu, S. Niihata, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 8869-8885.
- [159] C. Kasper, H. Alborzinia, S. Can, I. Kitanovic, A. Meyer, Y. Geldmacher, M. Oleszak, I. Ott, S. Wölfl, W. S. Sheldrick, *J. Inorg. Biochem.* **2012**, *106*, 126-133.
- [160] K. J. Kilpin, J. D. Crowley, *Polyhedron* **2010**, *29*, 3111 – 3117.
- [161] G. Annibale, M. Bortoluzzi, G. Marangoni, B. Pitteri, *Trans. Met. Chem.* **2005**, *30*, 748 – 750.
- [162] D. Suto, Y. Iuchi, Y. Ikeda, K. Sato, Y. Ohba, J. Fuji, *Archives of Biochem. and Biophys.* **2007**, *461*, 151-158.
- [163] J. Lee, P. Yu, X. Xiao, T. Kodadek *Mol. BioSyst.* **2008**, *4*, 59 – 65.
- [164] J. Catalan, *Chemical Physics* **2004**, *300*, 33-39.
- [165] J. R. Habour, S. L. Issler, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 903-905.
- [166] M. Simon, Bachelorarbeit, Philipps-Universität-Marburg **2012**.
- [167] T. Kodadek, I. Duroux-Richard, J.-C. Bannafous, *Trends in Pharm. Sci.* **2005**, *26*, 210-217.
- [168] F. Amini, C. Denison, H.-J. Lin, L. Kui, T. Kodadek, *Chem. Biol.* **2003**, *10*, 1115-1127.
- [169] L. Bouilly, M. Darabuntu, A. Turck, N. Ple, *J. Heterocyclic Chem.* **2005**, *42*, 1423-1428.
- [170] B. P. Sullivan, D. J. Salmon, T. J. Meyer, *Inorg. Chem.* **1978**, *17*, 3334.
- [171] F. H. Case, J. A. Brennan, *J. Org. Chem.* **1954**, *19*, 919-922.
- [172] R. Blasius, C. Moucheron, A. Kirsch-De Mesmaeker, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, 3971-3979.

- [173] L. Herman, S. Gosh, E. Defrancq, A. Kirsch-De Mesmaeker, *J. Phys. Org. Chem.* **2008**, *21*, 670-681.
- [174] N. Gauthier, J. De Winter, P. Gerbaux, C. Moucheron, M. Luhmer, A. Kirsch-De Mesmaeker, *Inorg. Chem.* 2010, *49*, 6796-6798.
- [175] A. Mattiuzzi, I. Jabin, C. Moucheron, A. Kirsch-De Mesmaeker, *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 7395-7402.
- [176] J. Ghesqui re, N. Gauthier, J. De Winter, P. Gerbaux, C. Moucheron, E. Defrancq, A. Kirsch-De Mesmaeker, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 355-364.
- [177] J. Prakash, J. J. Kodanko, *Inorg. Chem.* **2011**, *50*, 3934 – 3945.
- [178] S. Blanck, Dissertation, Philipps-Universität Marburg **2012**.
- [179] C. Brotschi, G. Mathis, C. J. Leumann, *Chem.Eur. J.* **2005**, *11*, 1911–1923.

Anhang

Tabellen

Tabelle 1: Synthese der Cyclopentadienyl Halbsandwichkomplexe.

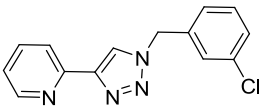
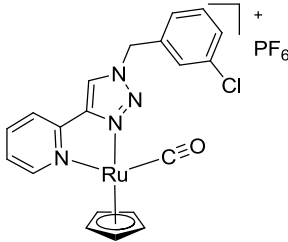
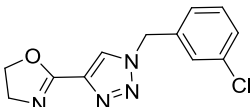
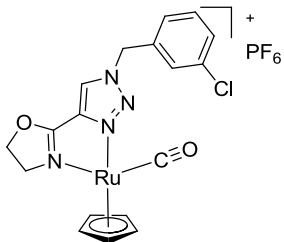
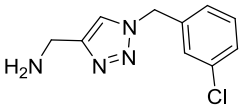
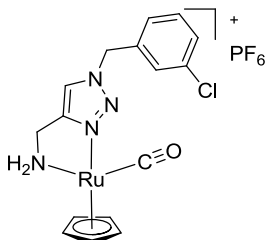
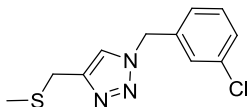
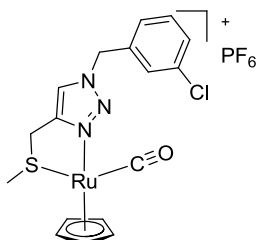
Ligand	Bedingungen	Metallkomplex
 <p>153</p>	$[\text{Ru}(\text{C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6$ DMF 90° C, 16 h 67%	 <p>164</p>
 <p>154</p>	$[\text{Ru}(\text{C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6$ DMF 90° C, 4h 41%	 <p>165</p>
 <p>160</p>	$[\text{Ru}(\text{C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6$ K ₂ CO ₃ MeOH 45 °C, 16 h 16%	 <p>166</p>
 <p>156</p>	$[\text{Ru}(\text{C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6$ DMF 90 °C, 16 h 14%	 <p>167</p>

Tabelle 1: Synthese der Cyclopentadienyl Halbsandwichkomplexe (Fortsetzung).

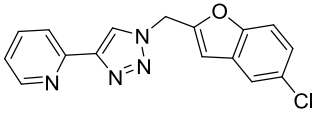
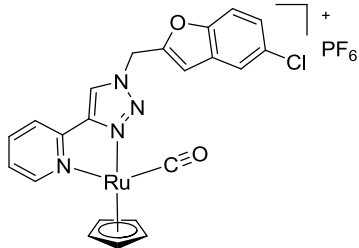
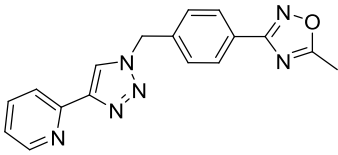
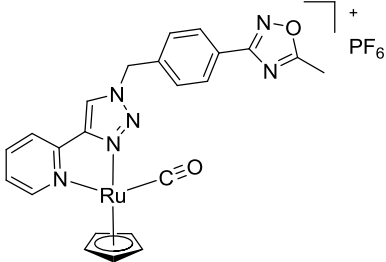
<u>Ligand</u>	<u>Bedingungen</u>	<u>Metallkomplex</u>
 <p>158</p>	$\text{Ru}(\text{C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2\text{PF}_6$ DMF 90 °C, 16 h 67%	 <p>168</p>
 <p>162</p>	$(\text{C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2\text{PF}_6$ MeOH/MeCN 1:1 45 °C, 16 h 67%	 <p>169</p>

Tabelle 2: Synthese der Benzolchlorido-Halbsandwichkomplexe.

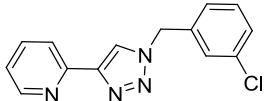
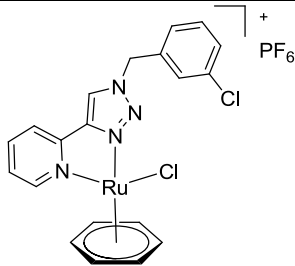
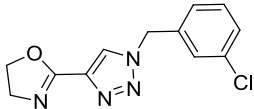
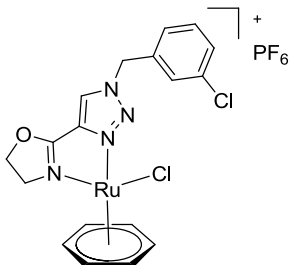
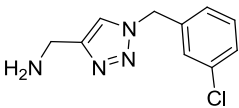
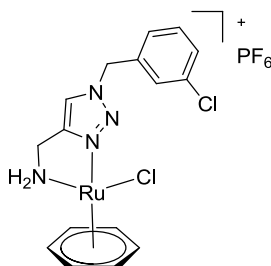
<u>Ligand</u>	<u>Bedingungen</u>	<u>Metallkomplex</u>
 <p>153</p>	$[\text{Ru}(\text{C}_6\text{H}_6)\text{Cl}_2]_2$ MeCN/MeOH 1:1 RT, 16 h 89%	 <p>171</p>
 <p>154</p>	$[\text{Ru}(\text{C}_6\text{H}_6)\text{Cl}_2]_2$ MeCN/MeOH 1:1 45 °C, 16 h -- %	 <p>172</p>
 <p>160</p>	$[\text{Ru}(\text{C}_6\text{H}_6)\text{Cl}_2]_2$ MeCN/MeOH 1:1 45 °C, 16 h -- %	 <p>173</p>

Tabelle 2: Synthese der Benzolchlorido-Halbsandwichkomplexe (Fortsetzung).

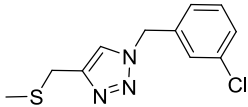
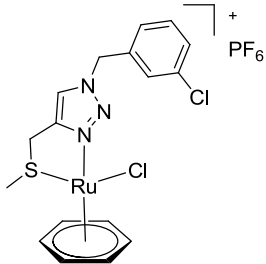
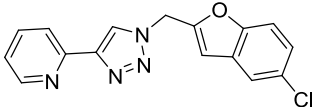
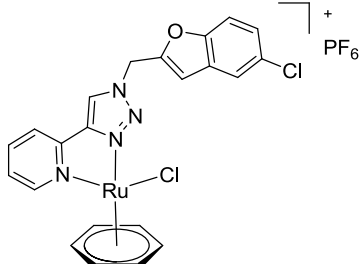
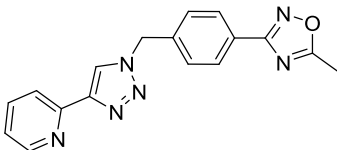
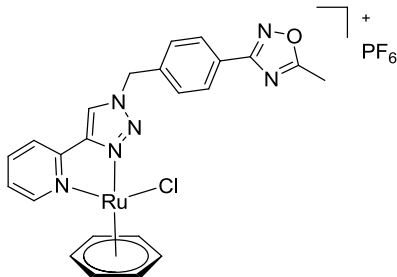
Ligand	Bedingungen	Metallkomplex
 <p>156</p>	$[\text{Ru}(\text{C}_6\text{H}_6)\text{Cl}_2]_2$ MeCN/MeOH 1:1 45 °C, 16 h -- %	 <p>174</p>
 <p>158</p>	$[\text{Ru}(\text{C}_6\text{H}_6)\text{Cl}_2]_2$ MeCN/MeOH 1:1 45° C, 16 h 73%	 <p>175</p>
 <p>162</p>	$[\text{Ru}(\text{C}_6\text{H}_6)\text{Cl}_2]_2$ MeOH/MeCN 1:1 40 °C, 16 h 75%	 <p>176</p>

Tabelle 3: Synthese der oktaedrischen Trithiacyclononankomplexe.

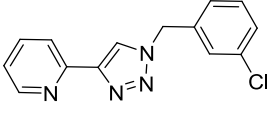
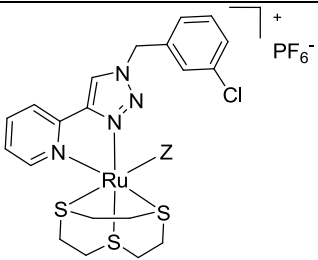
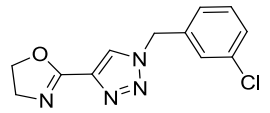
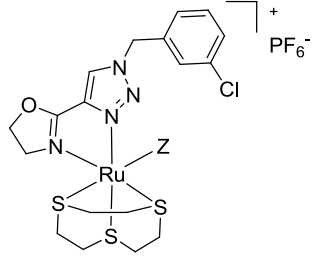
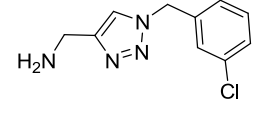
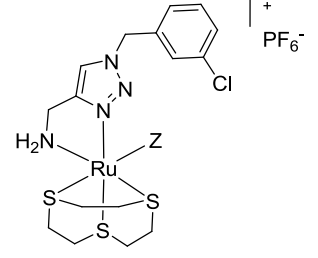
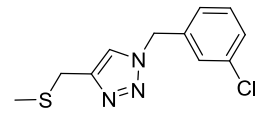
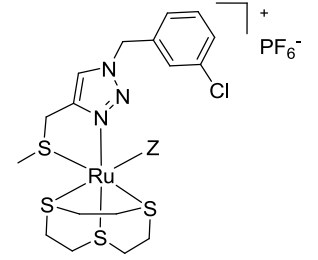
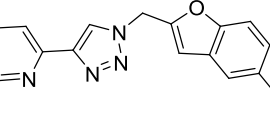
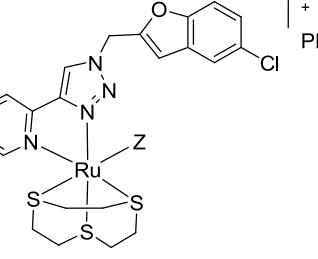
Ligand	Bedingungen	Metallkomplex
 153	1. $[\text{Ru}(\text{[9]aneS}_3)(\text{MeCN})_3]$ $(\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ DMF 90 °C, 16 h 2. NaZ 90°C, 3 h Z = N ₃ (178) 83% = NCS/SCN (179) 83%	 178-179
 154	1. $[\text{Ru}(\text{[9]aneS}_3)(\text{MeCN})_3]$ $(\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ DMF 90 °C, 16 h 2. NaZ 90°C, 3 h Z = N ₃ (180) 81% = NCS/SCN (181) 37%	 180-181
 160	1. $[\text{Ru}(\text{[9]aneS}_3)(\text{MeCN})_3]$ $(\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ DMF 90 °C, 16 h 2. NaZ 90°C, 3 h Z = N ₃ (182) --% = NCS/SCN (183) --%	 182-183
 156	1. $[\text{Ru}(\text{[9]aneS}_3)(\text{MeCN})_3]$ $(\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ DMF 90 °C, 16 h 2. NaZ 90°C, 3 h Z = N ₃ (184) 14% = NCS/SCN (185) --%	 184-185
 158	1. $[\text{Ru}(\text{[9]aneS}_3)(\text{MeCN})_3]$ $(\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ DMF 90 °C, 16 h 2. NaZ 90°C, 2-5 h Z = N ₃ (186) 89% = NCS (187) 36%	 186-187

Tabelle 3: Synthese der oktaedrischen Trithiacyclononankomplexe (Fortsetzung).

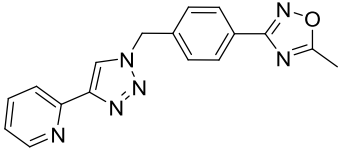
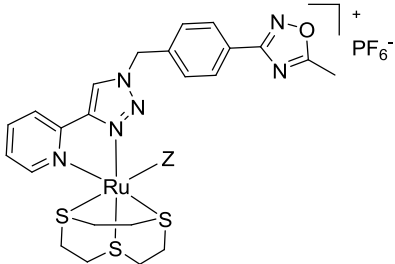
Ligand	Bedingungen	Metallkomplex
 <p>162</p>	<p>1. $[\text{Ru}(\text{[9]aneS}_3)(\text{MeCN})_3]$ $(\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ DMF 90 °C, 16 h 2. NaZ 90°C, 3 h Z = NCS/SCN (188) 36%</p>	 <p>188</p>

Tabelle 4: Synthese der oktaedrischen Bipyridinkomplexe.

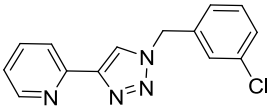
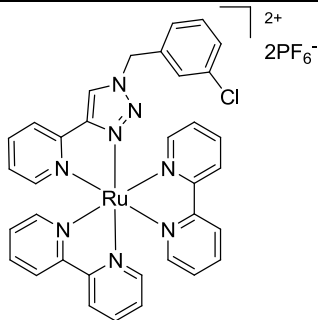
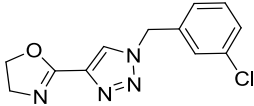
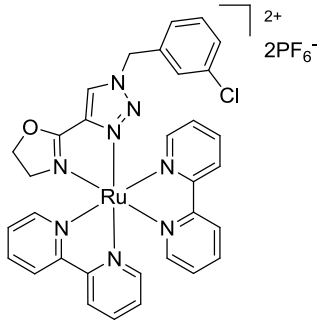
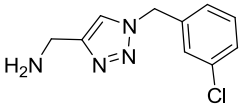
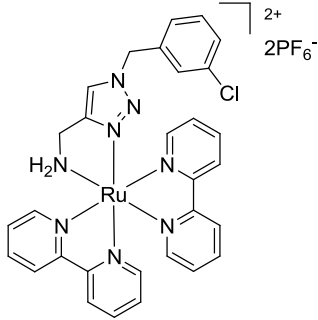
Ligand	Bedingungen	Metallkomplex
 <p>153</p>	<p>$[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{Cl}_2]$ EtOH Rückfluss, 3 h 58%</p>	 <p>193</p>
 <p>154</p>	<p>$[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{Cl}_2]$ EtOH Rückfluss, 3 h 21%</p>	 <p>194</p>
 <p>160</p>	<p>$[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{Cl}_2]$ K_2CO_3 EtOH Rückfluss, 3 h 30%</p>	 <p>195</p>

Tabelle 4: Synthese der oktaedrischen Bipyridinkomplexe (Fortsetzung).

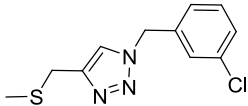
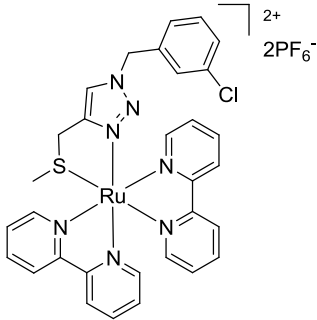
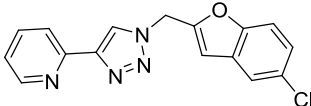
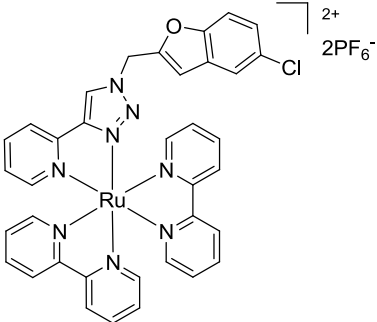
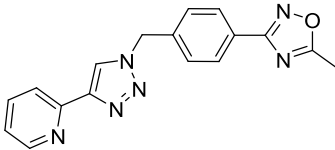
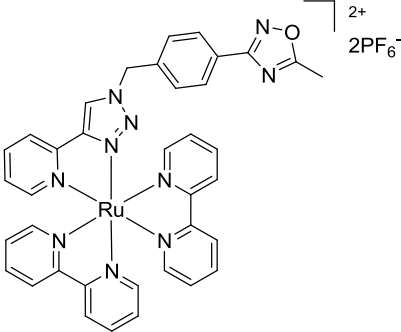
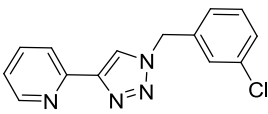
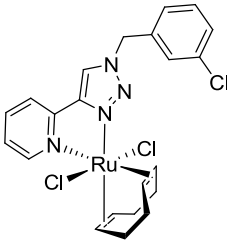
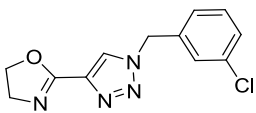
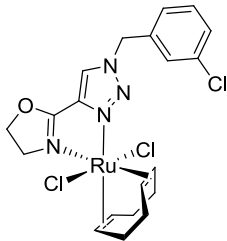
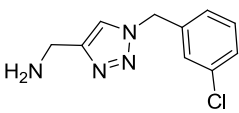
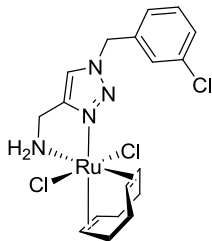
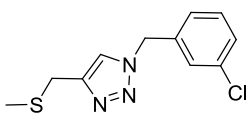
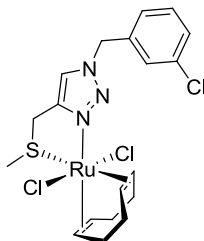
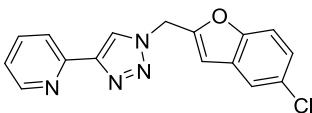
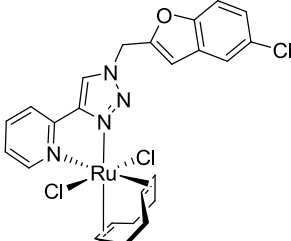
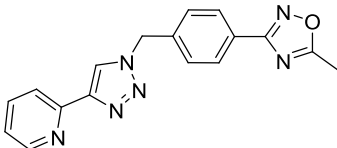
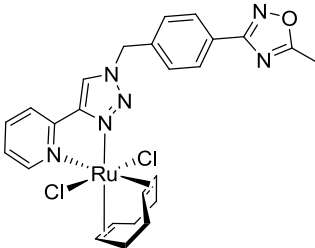
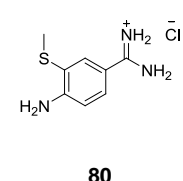
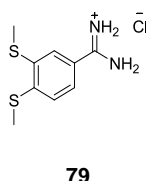
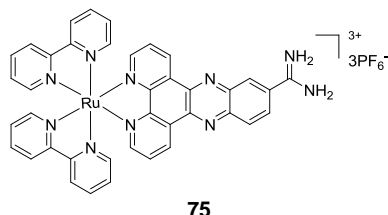
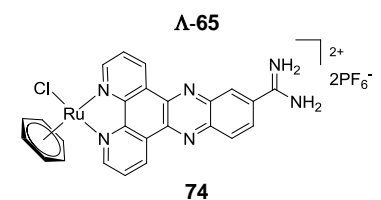
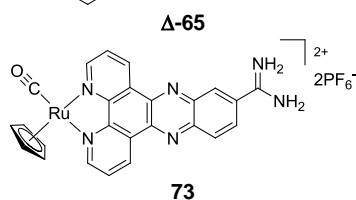
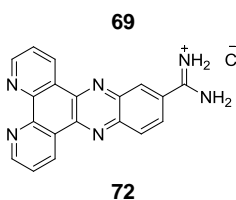
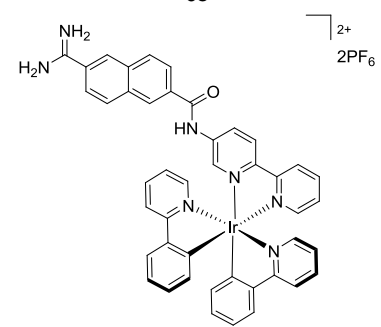
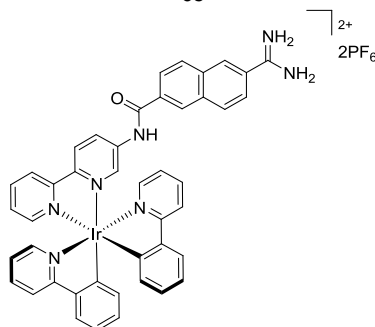
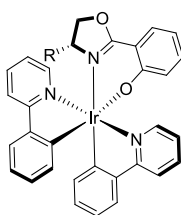
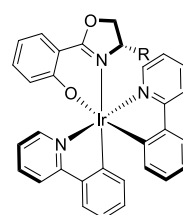
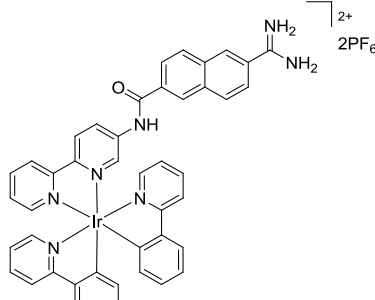
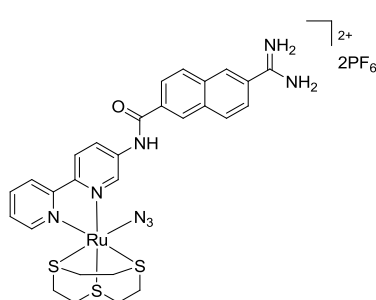
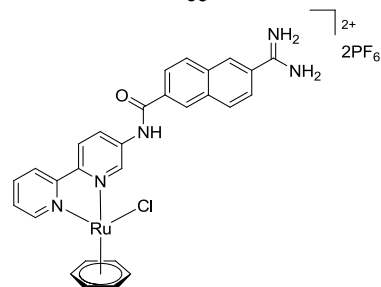
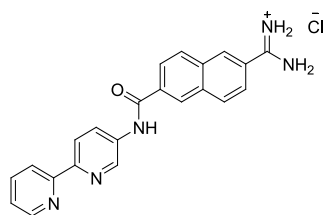
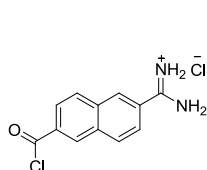
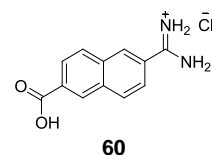
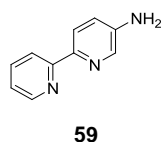
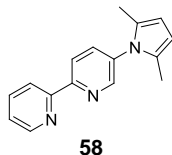
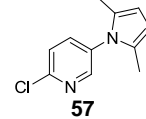
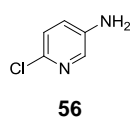
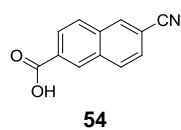
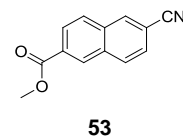
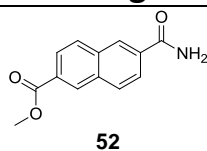
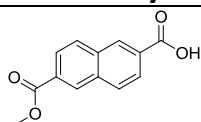
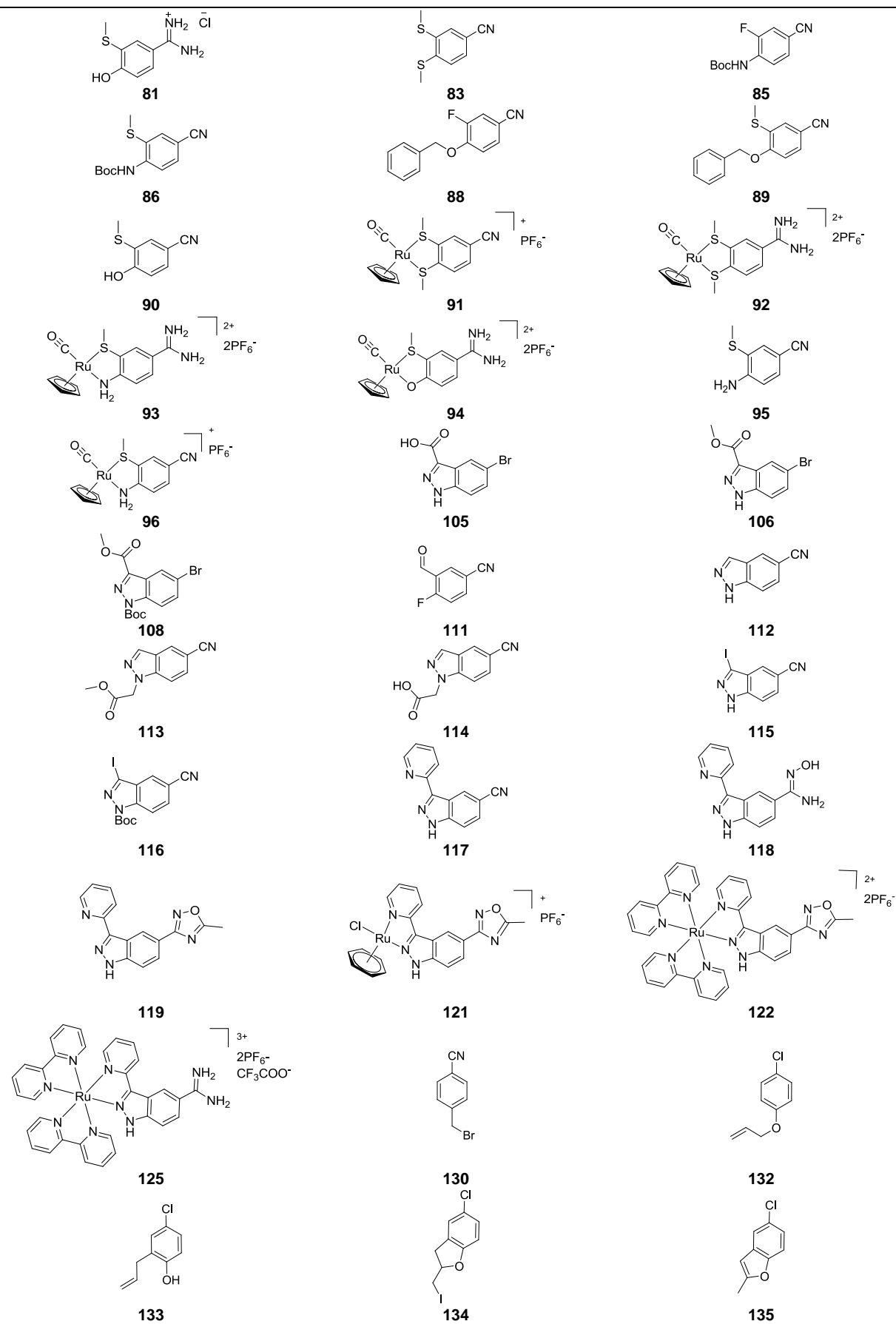
Ligand	Bedingungen	Metallkomplex
 <p>156</p>	<p>[Ru(bpy)₂Cl₂] EtOH Rückfluss, 5 h 22%</p>	 <p>196</p>
 <p>158</p>	<p>[Ru(bpy)₂Cl₂] EtOH Rückfluss, 4 h 63%</p>	 <p>197</p>
 <p>162</p>	<p>[Ru(bpy)₂Cl₂] EtOH Rückfluss, 2 h 50%</p>	 <p>198</p>

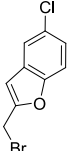
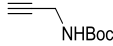

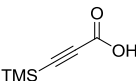
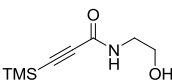
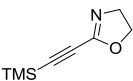

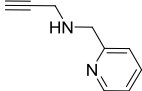

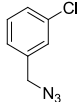
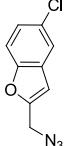
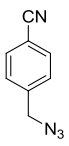
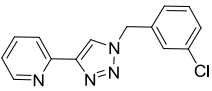
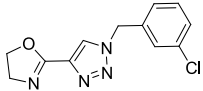
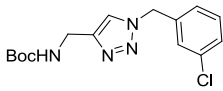
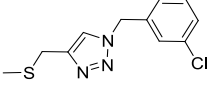
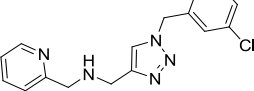
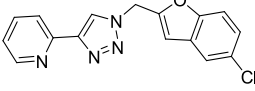
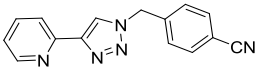
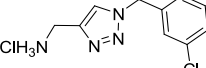
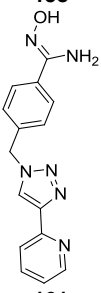
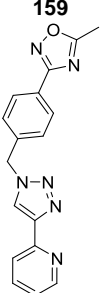
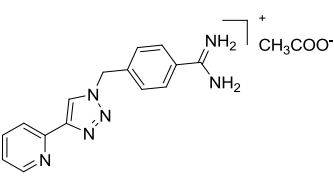
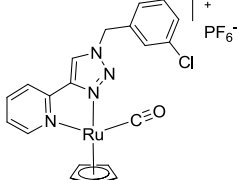
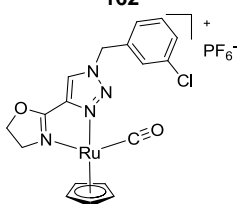
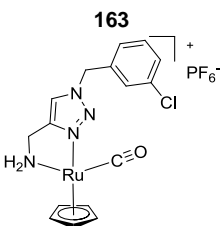
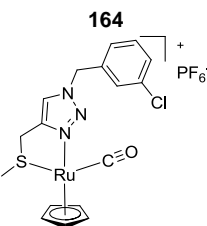
Tabelle 5: Synthese der oktaedrischen Trithiacyclononankomplexe.

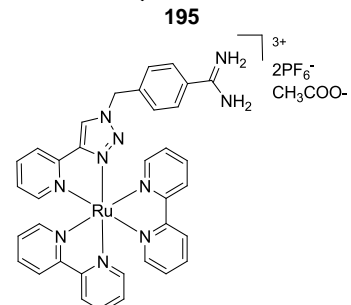
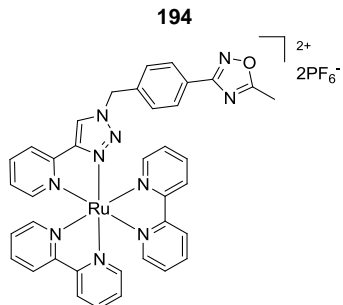
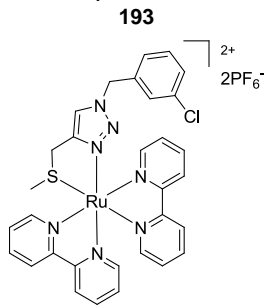
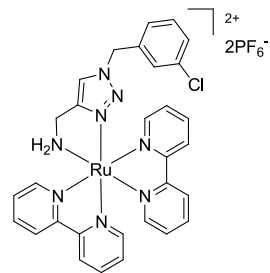
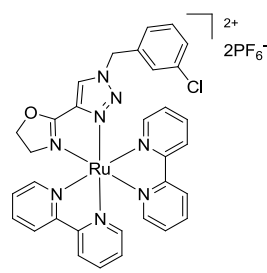
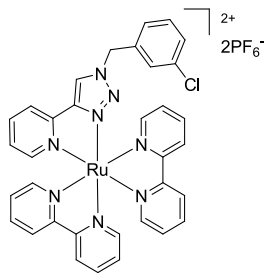
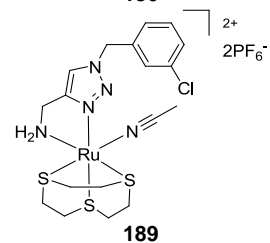
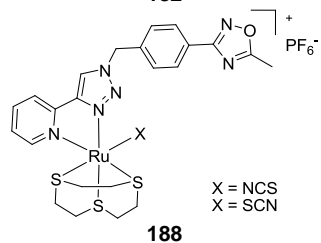
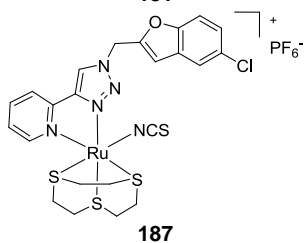
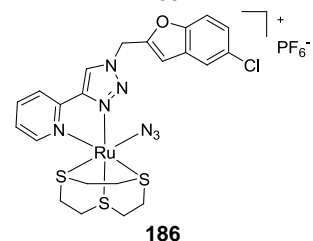
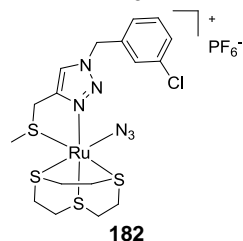
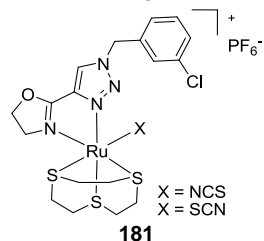
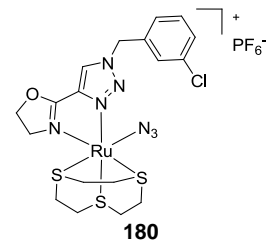
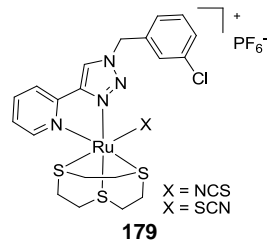
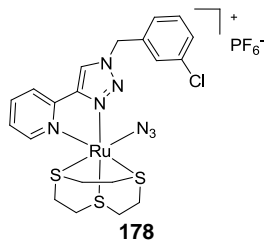
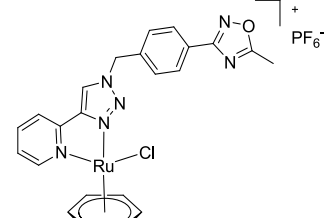
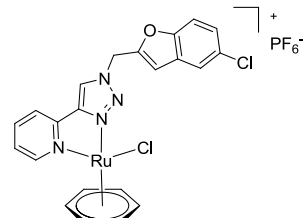
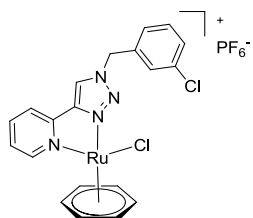
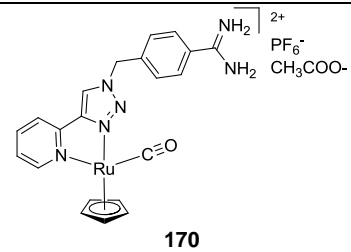
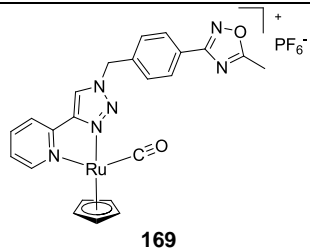
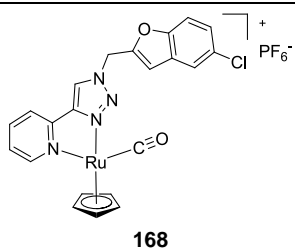
<u>Ligand</u>	<u>Bedingungen</u>	<u>Metallkomplex</u>
 <p>153</p>	<p>[RuCl₂COD(MeCN)₂] CHCl₃ Rückfluss, 3 h 58%</p>	 <p>200</p>
 <p>154</p>	<p>[RuCl₂COD(MeCN)₂] CHCl₃ Rückfluss, 3 h -- %</p>	 <p>201</p>
 <p>160</p>	<p>[RuCl₂COD(MeCN)₂] CHCl₃ Rückfluss, 3 h 30%</p>	 <p>202</p>
 <p>156</p>	<p>[RuCl₂COD(MeCN)₂] CHCl₃ Rückfluss, 3 h 30%</p>	 <p>203</p>
 <p>158</p>	<p>[RuCl₂COD(MeCN)₂] CHCl₃ Rückfluss, 3 h 74%</p>	 <p>204</p>
 <p>162</p>	<p>[RuCl₂COD(MeCN)₂] CHCl₃ Rückfluss, 2 h 69%</p>	 <p>205</p>

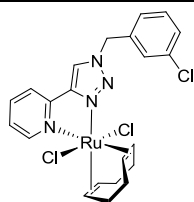
Übersicht der synthetisierten Verbindungen



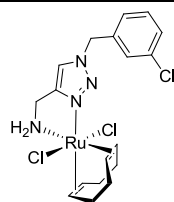


 136	 138	 140
 141	 142	 143
 144	 145	 148
 149	 150	 151
 153	 154	 155
 156	 157	 158
 159	 160	 161
 162	 163	 164
 165	 166	 167

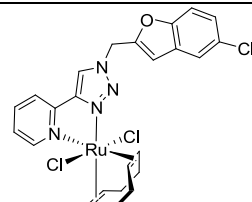




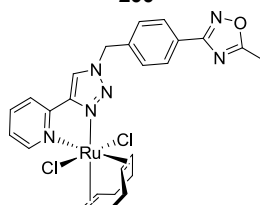
200



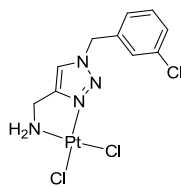
202



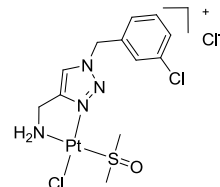
204



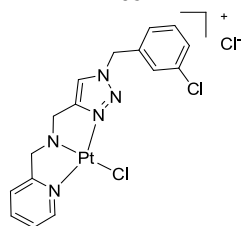
205



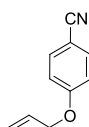
207



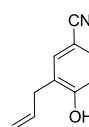
208



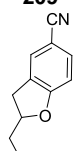
209



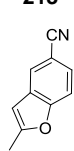
213



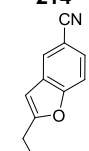
214



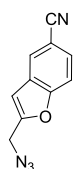
215



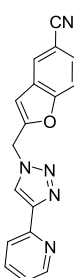
216



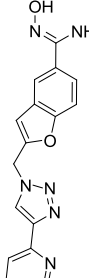
217



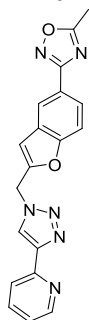
219



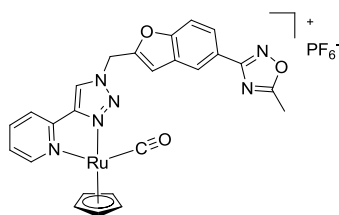
219



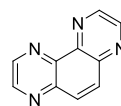
221



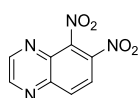
222



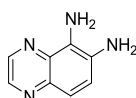
223



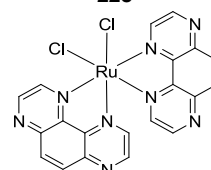
228



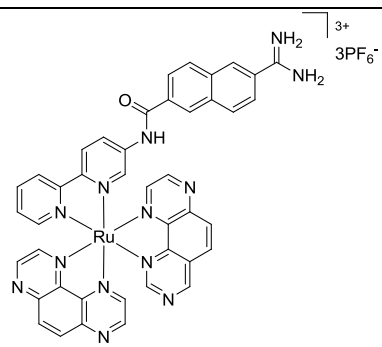
230



232



233



234

Abkürzungsverzeichnis

[9]aneS ₃	1,4,7-Trithiacyclononan
Å	Angström
ADP	Adenosindiphosphat
APCI	Chemische Ionisierung unter Atmosphärendruck (engl.: <i>atmospheric pressure chemical ionization</i>)
APS	Ammoniumperoxodisulfat
Asp	Asparaginsäure
Arg	Arginin
ATP	Adenosintriphosphat
boc	tert –Butoxycarbonyl
bpy	2,2'-Bipyridin
CALI	Chromophor-unterstützte Photodeaktivierung (engl.: <i>Chromophore assisted light inactivation</i>)
CD	Circulardichroismus
COD	1,5-Cyclooctadien
D	Dalton
d	Duplett (NMR-Spektroskopie)
dba	Dibenzylidinetriphenylmethanon
DBPO	Dibenzoylperoxid
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
DCM	Dichlormethan
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMAP	4- <i>N,N</i> -Dimethylaminopyridin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure (engl.: <i>deoxyribonucleic acid</i>)
DPPZ	Dipyrido[3,2-a:2',3'-c]phenazin
EI	Elektronenstoßionisation
ESI	Elektrospray-Ionisation
<i>et al.</i>	und andere (lat.: <i>et alii, et aliae</i>)

FLIM	Fluoreszenzlebensdauer-Mikroskopie Fluorescence lifetime imaging microscopy
FT-IR	Fourier-Transformation-Infrarot-Spektroskopie
Gln	Glutamin
Gly	Glycin
GSK3	Glycogen synthase kinase 3
h	Stunde
HeLa	Gebärmutterhalskrebszelllinie (HENRIETTA LACKS)
His	Histidin
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (engl: <i>high performance liquid chromatography</i>)
HRMS	Hochaufgelöste Massenspektrometrie (engl.: <i>high resolution mass spectrometry</i>)
HTP	<i>Halo Tag Protein</i>
Hz	Hertz
IC ₅₀	Inhibitorkonzentration bei der die Restaktivität des Enzyms 50% beträgt
ISC	<i>inter system Crossing</i>
K_i	Dissoziationskonstante des Inhibitors
L	Liter
LC	Ligand-Ligand Übergang
LiHMDS	Lithiumbis(trimethylsilyl)amid
LMCT	<i>Ligand-Metall Charge Transfer</i>
Lys	Lysin
m	Meter
m	Multiplett (NMR-Spektroskopie)
MC	Metall-Metall Übergang
min	Minute
MLCT	<i>Metall-Ligand Charge Transfer</i>
Ms	Mesylgruppe
MW	Mikrowelle
n	nano
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
NHS	<i>N</i> -Hydroxysuccinimid
NMR	Kernresonanzspektroskopie (engl.: <i>nuclear magnetic resonance</i>)

NOESY	<i>nuclear overhauser enhancement spectroscopy</i>
Otf	Trifluormethansulfonat-Anion
PAK1	p21 aktivierte Kinase 1
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
ph	Phenyl
Phe	Phenylalanin
Pet	<i>photoinduced electron transfer</i>
ppm	Teile von einer Million (engl.: <i>parts per million</i>)
py	Pyridin
q	Quartett (NMR-Spektroskopie)
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies (engl.: <i>reactive oxygen species</i>)
rpm	Umdrehungen pro Minute
RT	Raumtemperatur
s	singulett (NMR-Spektroskopie)
Ser	Serin
t	Triplett (NMR-Spektroskopie)
tap	1,4,5,8-Tetraazaphenanthren
TFA	Trifluoressigsäure
TFEA	Trifluoressigsäureanhydrid
THF	Tetrahydrofuran
Trp	Tryptophan
Ts	Tosylat
Tyr	Tyrosin
VEGR	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VEGFR	<i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor</i>

Wissenschaftlicher Werdegang

Persönliche Daten

Geburtsdatum 08.05.1984
Geburtsort Fulda
Staatsangehörigkeit deutsch

Ausbildung

Doktorarbeit

01/2010 – 01/2013 Philipps-Universität Marburg, Prof. Dr. Eric Meggers, „Verwendung metallorganischer Verbindungen als Inhibitoren für Serinproteasen“

Diplomarbeit

04/2009 – 12/2009 Philipps-Universität Marburg, Prof. Dr. Eric Meggers, „Entwicklung metallorganischer Verbindungen als Inhibitoren für Serinproteasen“

Studium

10/2006 – 02/2009 Hauptstudium, Diplom Chemie, Philipps-Universität Marburg
10/2004 – 10/2006 Grundstudium, Vordiplom Chemie, Philipps-Universität Marburg

Schulische Ausbildung

07/1994 – 06/2003 Freiherr-vom-Stein Schule Fulda, Abitur

Auslandsaufenthalt

08/2007 – 12/2007 Visiting Researcher, University of Pittsburgh, Prof. Dr. Stéphane Petoud, „Dendrimer-Lanthanid-Komplexe als Sauerstoffsensoren“

Publikationen und Vorträge

- M. A. Alcalá, C. M. Shade, H. Uh, S. Y. Kwan, **M. Bischof**, Z. P. Thompson, K. A. Gogick, A. R. Meier, T. G. Strein, D. L. Bartlett, R. A. Modzelewski, Y. J. Lee, S. Petoud, C. K. Brown
„*Biomaterials* **2011**, 23, 9343-9352.
- „Metallkomplexe als Inhibitoren von Serinproteasen“, Vortrag bei Heraeus, Hanau, **2011**.

Erklärung

gemäß § 10, Abs. 1 der Promotionsordnung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fachbereiche und des Medizinischen Fachbereichs für seine mathematisch-naturwissenschaftlichen Fächer der Philipps-Universität Marburg vom 15.07.2009

Ich erkläre, dass eine Promotion noch an keiner anderen Hochschule als der Philipps-Universität Marburg, Fachbereich Chemie, versucht wurde.

Ich versichere, dass ich meine vorgelegte Dissertation

Verwendung metallorganischer Verbindungen als Inhibitoren für Serinproteasen

selbst und ohne fremde Hilfe verfasst, nicht andere als die in ihr angegebenen Quellen oder Hilfsmittel benutzt, alle vollständig oder sinngemäß übernommenen Zitate als solche gekennzeichnet sowie die Dissertation in der vorliegenden oder ähnlichen Form noch bei keiner anderen in- oder ausländischen Hochschule anlässlich eines Promotionsgesuchs oder zu anderen Prüfungszwecken eingerichtet habe.

Marburg, den 18.02.2013



Matthias Bischof